Beiträge zur Kenntnis der Sprosspilze ohne Sporenbildung.

Von der
Kgl. Technischen Hochschule zu München
zur
Erlangung der Würde eines Doktors der Technischen Wissenschaften
(Doktor-Ingenieurs)
genehmigte Dissertation.

Vorgelegt von

Diplom-Ingenieur **Arthur Geiger**
aus Gundelfingen.

Mit 5 Figuren im Text, 1 Tafel und 14 Tabellen im Anhang.

Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer, Jena.
1910.

Beiträge zur Kenntnis der Sprosspilze ohne Sporenbildung.

Von der

Kgl. Technischen Hochschule zu München

zur

Erlangung der Würde eines Doktors der Technischen Wissenschaften

(Doktor-Ingenieurs)

genehmigte Dissertation.

Vorgelegt von

Diplom-Ingenieur **Arthur Geiger**

aus Gundelfingen.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Mit 5 Figuren im Text, 1 Tafel und 14 Tabellen im Anhang.

Referent:
Prof. Dr. C. J. Lintner.

Korreferent:
Prof. Dr. K. Giesenhagen.

Tag der mündlichen Prüfung: 24. Februar 1910.

Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer, Jena.
1910.

Vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom Winter-Semester 1907/08 bis Sommersemester 1910 am gärungsphysiologischen Laboratorium der K. Akademie für Landwirtschaft und Brauerei in Weihenstephan ausgeführt.

Es ist mir eine angenehme Pflicht dem Vorstand des gärungsphysiologischen Instituts Herrn Akademielehrer Dr. H. Schnegg auf dessen Veranlassung und unter dessen liebenswürdiger Unterstützung die Arbeit entstand, auch an dieser Stelle meinen herzlichen Dank auszusprechen.

Einleitung.

Von der großen Anzahl von Pilzen, welche in Gärungsbetrieben häufiger getroffen werden, sind es natürlich vor allem die Hefepilze im weiteren Sinn, im besondern die Erreger der alkoholischen Gärung, die eine eingehende Untersuchung erfahren haben. Eine schärfere Abgrenzung und eine Einreihung in ein System wurde aber erst ermöglicht, als Hansen anfangs der achtziger Jahre des vorigen Jahrhunderts die Reinzüchtung der Organismen einführte.

Zunächst hat durch Hansen die Familie der Saccharomyceten eine scharfe Abgrenzung erfahren. Von anderen Sproßpilzen sind es verhältnismäßig wenige, die bis jetzt einer eingehenden Untersuchung, sowohl nach der morphologischen, wie auch biologischen und physiologischen Seite hin, unterzogen wurden.

Will hat in seiner Arbeit über 15 Sproßpilze ohne Sporenbildung, die im Brauereibetrieb vorkommen, den Gattungsbegriff Torula abgegrenzt.

Leberle bezweckte mit seiner Arbeit „Beiträge zur Kenntnis der Gattung Mycoderma" dasselbe für die Gattung Mycoderma.

Bis jetzt werden alle Sproßpilze ohne Sporenbildung, soweit es sich nicht um bekanntere Fadenpilze handelt, in der Hauptsache entweder zu den Torulaceen oder zu den Mycodermen gezählt.

Leberle weist in der eben erwähnten Arbeit bereits darauf hin, daß diese beiden Gattungen nicht hinreichen, um alle in den Gärungsbetrieben vorkommenden Sproßpilze, welche als Mycelhefen, Kahmhefen usw. bezeichnet werden, in sich zu vereinigen. Man kennt jetzt schon Formen, welche sich in keiner der bis jetzt aufgestellten Gruppen unterbringen lassen.

Mit der fortschreitenden Entwicklung des Studiums der Sproßpilze ohne Sporenbildung wird die Notwendigkeit herantreten, neue Gruppen von diesen aufzustellen.

Die vorliegende Arbeit soll nun dazu mitbeitragen, einige solcher in Gärungsbetrieben vorkommenden Organismen, welche jetzt gewöhnlich mit dem allerdings nicht sehr glücklich gewählten Namen Mycelhefen bezeichnet werden, einer eingehenden morphologischen und physiologischen Untersuchung zu unterziehen.

Die 4 Organismen stammen aus Würze- und Bierleitungen von Brauereien. Anschließend soll dann die systematische Stellung dieser vier Pilze erörtert werden.

Morphologisch wurden Form, Größe und Inhalt der Zellen, Art der Zellverbände, Wachstum in und auf verschiedenen Nährböden, besonders die Hautbildung näher verfolgt. Im physiologischen Teile wurde vor allem

das Verhalten zu verschiedenen Zuckerarten, ferner das Verhalten gegen organische Säuren und Alkohol in den Kreis der Untersuchungen gezogen.

Ferner wurden noch Versuche über die Widerstandsfähigkeit der Organismen gegenüber höheren Temperaturen angestellt.

Allgemeine Morphologie.

Form und Größe der Zellen.

Durch die grundlegenden Untersuchungen von Emil Ch. Hansen ist festgestellt worden, daß Form und Größe der Zellen kein durchgreifendes Unterscheidungsmerkmal der Hefen und andern Sproßpilze darbietet, und damit die Ansicht von Reeß über die Unterscheidung von Arten nach der Form ihrer Zellen endgültig abgetan.

Will erwähnt bei den Torulaceen (Lafar, Handbuch d. techn. Mykologie Bd. IV. S. 284), daß bei diesen Organismen, namentlich in der zweiten Untergruppe, große Unterschiede bezüglich der Form und Größe der Zellen auftreten.

Gleichwohl kann nach Will (Anleitung zur biologischen Untersuchung usw. p. 81) schon eine einfache mikroskopische Untersuchung das Vorhandensein von wilden Hefearten oder Torulaceen usw. neben Kulturhefe ersehen lassen, wenn neben Form und Größe der Zellen auch noch die Beschaffenheit und der Aufbau des Zellinhaltes mit in Betracht gezogen werden.

Für die hier behandelten Organismen dürfte zu erwähnen sein, daß es sich um isolierte Zellen höchstens in infizierter Würze vom Kühlschiff u. dgl. handeln kann.

In den Kulturen, wenigstens in den älteren sind in der Regel zwei Gruppen von Zellen zu unterscheiden, nämlich Verbände von langgestreckten Zellen und gedrungene Zellen, die sich zum Teil anfangs mit der gleichen Form vermehren, dann aber lang auswachsen und durch seitliche Sproßung wieder gedrungene Zellen, welche sich leicht ablösen, erzeugen.

Damit erklärt sich zum Teil die wechselnde Form der Zellen bei den vier Pilzen. Bei den Saccharomyceten und Torulaceen der ersten Untergruppe handelt es sich, wenigstens im ersten Entwicklungsstadium nur um isolierte Zellen oder Verbände von ähnlichen Zellformen.

Charakteristisch für alle 4 Organismen ist, daß in älteren Kulturen, namentlich in solchen, welche Sauerstoffmangel hatten (Tröpfchenkulturen, Unterseite der Riesenkolonien) sehr lange, fadenförmige Zellen auftreten, welche den Kolonien ein fadenpilzähnliches Aussehen geben. Durch die Entwicklung dieser mycelfadengleichen Zellen erinnerten die Bilder an Formen aus der Gattung Monilia.

Daß Sauerstoffmangel oder -reichtum von Einfluß auf die Form der Zellen von Sproßpilzen ist, darauf hat schon Winogradsky in seinen Untersuchungen über Mycoderma vini (Arbeit. d. Petersburger Naturforsch. Gesellsch. 1884. p. 132) hingewiesen. Auch Meißner (Landwirtsch. Jahrbücher 1901. p. 527) hat bei den von ihm untersuchten Kahmhefen einen Einfluß des Sauerstoffs feststellen können insoweit, als dieselbe Kahmhefe bei Sauerstoffzutritt hefeähnliches Wachstum zeigte, während bei Sauerstoffmangel mehr myceale Zellen sich entwickelten.

Will (Centralbl. f. Bakter. Abt. II, Bd. 17. p. 7) kommt auf Grund seiner Untersuchungen zu dem Schluß, daß fast gesetzmäßig da, wo kugelförmige, den Zellen der typischen Torulaarten gleiche oder ähnliche

Zellen entstehen, diese ausschließlich oder vorherrschend an der Oberfläche, also in direkter Berührung mit der Luft entstehen. Bis zu einem gewissen Grade konnte diese Erscheinung auch an den Kulturen der vier Pilze angetroffen werden.

Wie die Form, so schwankt natürlich auch die Größe der Zellen innerhalb weiter Grenzen. Gar nicht selten konnten jene auffallend großen Zellen, sogenannte „Riesenzellen", namentlich in älteren Kulturen, gefunden werden, welche sowohl bei Saccharomyceten als auch bei Torulaceen vorkommen.

Ob diese „Riesenzellen" abnorme pathologische Zellen sind, oder ob es sich um Zellen mit bestimmten Funktionen handelt, konnte auch durch vorliegende Arbeit nicht entschieden werden. Doch scheint die Ansicht von Will, daß es sich um pathologische Formen handelt, am meisten Wahrscheinlichkeit für sich zu haben. Auch ihre Hinfälligkeit dürfte dafür sprechen. Die gleiche Meinung vertritt auch Henneberg (Wochenschr. f. Brauerei. 1904. p. 311, ferner Henneberg, Gärungsbakterien. Praktikum. 1909. p. 149 u. 403) bezüglich der Riesenzellen von Hefe. Besonders häufig wurden solche Riesenzellen in den Kolonien auf Kartoffelwassergelatine beobachtet.

Zellinhalt.

Der Inhalt der jungen Zellen der 4 Pilze ist homogen und zeigt das für Mycoderma- und Torularten charakteristische schwache Lichtbrechungsvermögen. Später treten Änderungen im Zellinhalt auf. Hervorzuheben ist vor allem das Auftreten von stark lichtbrechenden Inhaltskörperchen, welche für Torula- und Mycoderma arten besonders charakteristisch sind und in älteren Hefezellen regelmäßig vorhanden sind.

Diese Inhaltskörperchen werden verschiedenartig bezeichnet. Häufig ist noch der Name „Granula". Doch trifft diese Bezeichnung nicht das Charakteristische jener Einschlüsse. Die Natur dieser Körperchen ist jedenfalls von vorneherein eine verschiedene und wechselt auch mit dem Alter der Kulturen und den Bedingungen, denen sie ausgesetzt sind. Vielfach handelt es sich um Tropfen verschiedener Größe einer fettartigen Substanz. Für diese dürfte die Bezeichnung Fett- oder Öltropfen zutreffend sein.

Bestehen die Körperchen dagegen aus einer eiweißartigen Grundsubstanz, in welche Fett eingelagert ist, so werden diese Einschlüsse nach Will (Lafar, Handb. d. techn. Mykologie. Bd. 4. § 16. Anatomie der Hefezelle) treffend mit dem Namen „Ölkörperchen" bezeichnet. In vorliegender Arbeit wurde im allgemeinen auf die Zusammensetzung dieser Inhaltskörperchen nicht weiter eingegangen, es soll daher hier nicht von Ölkörperchen, sondern allgemein von stark lichtbrechenden Körperchen oder Granula gesprochen werden. Eine Ähnlichkeit bezüglich dieser Einschlüsse mit denen in den gedrungenen Zellformen der Torulaceen, Mycodermen und Monilien besteht darin, daß sie häufig in der Einzahl, seltener zu zweien oder dreien in einer Zelle auftreten.

In älteren Kulturen treten in den Zellen, welche sich im Hungerzustand befinden und der Auflösung des Inhalts entgegengehen, große Fettropfen auf, wie dies Will für Hefezellen in seiner „Anleitung zur biologischen Untersuchung" usw. (p. 44) darstellt. Manchmal wird fast der ganze Raum von einem Fettropfen eingenommen, manchmal sind es deren 2—4.

Die stark lichtbrechenden Inhaltskörper färben sich mit 1 Proz. Osmiumsäure ziemlich rasch braunschwarz, mit Alkannatinktur rot, während

Fig. 1. Pilz No. III. Sproßverband nach 16 Stunden. 1 : 1000.

mit konzentrierter Schwefelsäure eine Färbung (wie bei den Hautzellen von Saccharomyceten) nicht beobachtet werden konnte.

Vakuolen treten ja immer in den Zellen auf, bei No. III sind sie regelmäßig gelagert, ferner ist zu bemerken, daß in den großen Vakuolen von

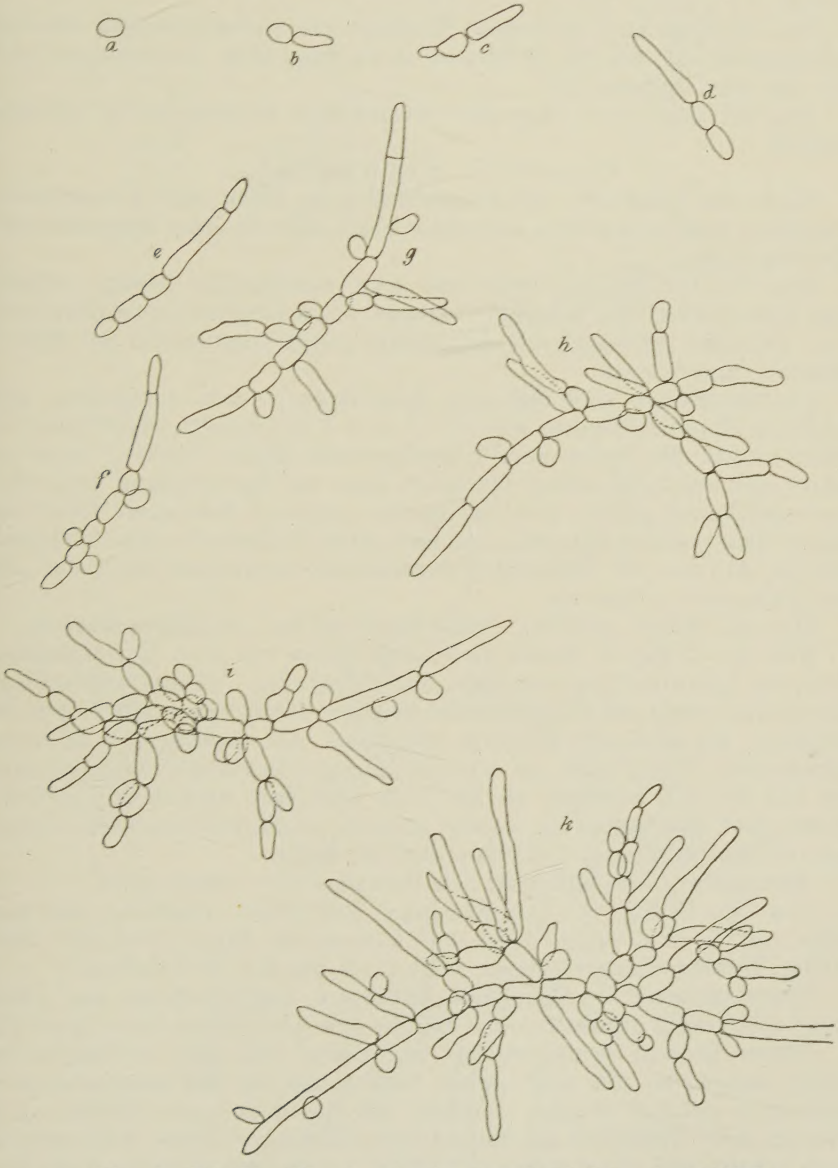


Fig. 2. Pilz No. IV. Sproßverband nach 16 Std. 1 : 1000.

Zellen ähnlich den typischen Torulazellen bei No. III und No. VII kristallähnliche Körper gefunden wurden. Diese Erscheinung ist bei Torularten ziemlich häufig.

Glykogenreaktion (ausgeführt nach den Angaben von Braun, Zeit-

schr. f. d. ges. Brauw. 1901. p. 307 mit 0,1 Proz. Jodlösung) zeigten die meisten Zellen aus Würzekulturen in mehr oder weniger großer Intensität.

No. III zeigt in 8 und 14 Tage alten Kulturen ziemlich starke Glykogenreaktion, in älteren Kulturen ist sie nur mehr schwach, aber immerhin noch deutlich.

No. IV zeigt auch in jungen Kulturen nur verhältnismäßig schwache Glykogenreaktion; bei No. V tritt sie in 14 Tage alten Kulturen am stärksten von allen anderen auf.

No. VII zeigt in 14 Tage alter Würzekultur ziemlich starke Glykogenreaktion.

Spezielle Morphologie.

Nach den Zellformen und Zellverbänden, in denen diese 4 Organismen, namentlich in Würzekulturen auftreten, lassen sich die Pilze folgendermaßen charakterisieren:

Pilz No. III Fig. 1. Zellformen sehr verschieden, häufig, schmale, ovale Zellen von 4—6 μ Längsdurchmesser, stark lichtbrechende Körperchen 1—3, Vakuolen teilweise groß, regelmäßig gelagert, manchmal mit kristallähnlichen Einschlüssen.

Charakteristisch sind hin- und hergebogene, wenig verzweigte, querwandfreie Mycelien, ähnlich wie bei IV und VII. An den Mycelfäden entstehen seitlich die ovalen oder schmalgestreckt-ovalen Zellen. Diese vermehren sich durch Sprossung und gehen dann zur Fadenbildung über. Eine Querwandbildung konnte nicht festgestellt werden. Scheinbare Querwandbildung kam dadurch zustande, daß zwei große Vakuolen so nahe aneinander reichten, daß nur ein schmaler Plasmastreifen dazwischen blieb, der dann eine Querwand vortäuschte.

Die auf Würze gebildete, derbe Haut ist fest zusammenhängend.

Pilz No. IV Fig. 2. Runde und ovale Zellen von 3—5 μ Durchmesser, schwaches Lichtbrechungsvermögen des Zellinhaltes. Charakteristisch sind lange dünne, meist annähernd parallel liegende, wenig verzweigte Fäden ohne Querwand, die in älteren Kulturen gegenüber den gedrungenen Zellformen vorherrschen. Die Häute auf alten Kulturen zeigen Ähnlichkeit mit denen von Pilz No. VII insofern, als sie auch sehr hart werden und mit dem Messer glatt durchschnitten werden können. Stark lichtbrechende Körperchen in den rundlichen und ellipsoidischen Zellen.

Riesenzellen, namentlich in den Riesenkolonien, nicht selten.

Pilz No. V Fig. 3. Unregelmäßige Zellformen, rundliche und ovale Zellen von 3—6 μ, junge Zellen mit homogenem Inhalt, und sehr dünnwandig, Lichtbrechungsvermögen stärker als bei den drei anderen.

Charakteristisch ist, daß beide Zellformen, kugelige Zellen und Fäden, immer gleichzeitig auftreten, ohne daß die eine oder andere Form überwiegt.

Ferner ist sehr bemerkenswert bei diesem Pilz, daß die langen Zellformen aneinander mit sehr breiter Basis sitzen, so daß manchmal breite Querwände sichtbar werden. Zerfällt der Faden in kurze Glieder, so bekommen diese Teilstücke ein oidienartiges Aussehen. Dieses wird noch dadurch erhöht, daß das Auskeimen vielfach wie bei den Konidien von Oidien erfolgt. Die Vermehrung der Fadenstücke erscheint oft wie ein Zwischending zwischen Sprossung und Spitzenwachstum.

Charakteristisch ist, daß die Zellen in alten Kulturen von großen Öltröpfchen reichlich durchsetzt sind. Die Haut auf alten Kulturen ist ähnlich wie bei III von derber Beschaffenheit und zähe zusammenhängend.

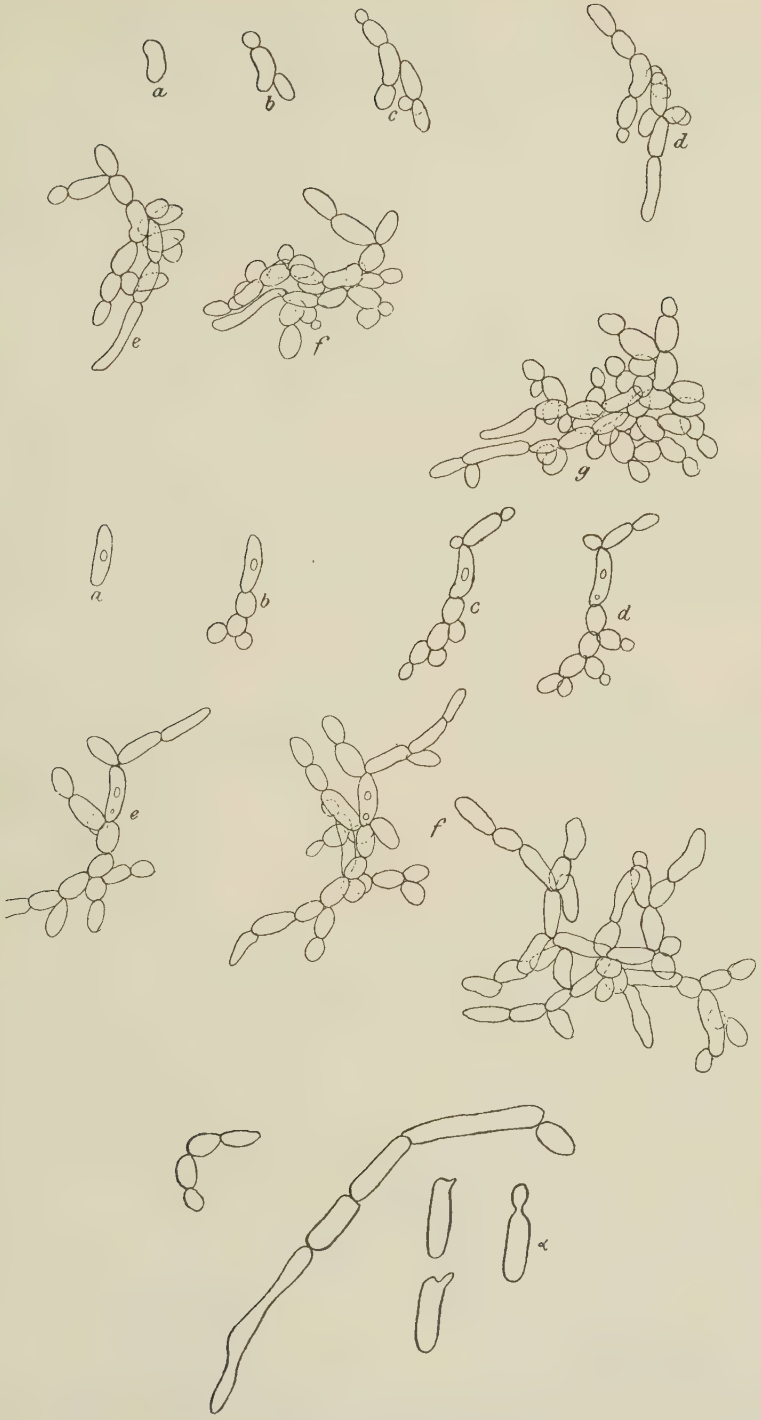
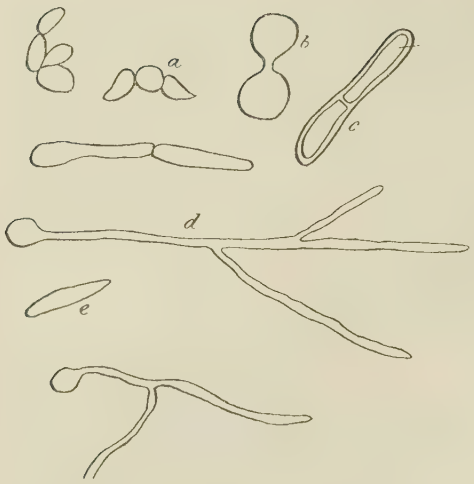


Fig. 3. Pilz No. V. Sproßverband nach 8 Std. Zellen aus 8 Tage alten Kulturen.



Charakterische Zellformen. a) apiculasförmige Zellen; b) hantelförmige Riesenzelle; c) scheinbare Querwand; d) Auswachsen der ovalen Zellen zu langen Myzelfäden; e) Spindelförmige Zellen in 1 Monat alten Würzekulturen.

Pilz No. VII Fig. 4. In jungen Kulturen herrschen sehr charakteristische, durch Sprossung auseinander hervorgegangene (Sproßverbände) ovale bis gestreckt-ovale Zellen von 5—6 μ Durchmesser vor, die manchmal an den Enden etwas zugespitzt erscheinen (fast apiculatus ähnlich), Riesenzellen zuweilen durch eine dünnere Zellpartie hantelartig miteinander verbunden; kein größeres, stärker hervortretendes Ölkörperchen, viel stark lichtbrechende Körnchen.

Infolge Verschleimung der Zellhaut ist diese bei vielen ovalen Zellen nicht sehr deutlich nach außen abgegrenzt.

Daneben finden sich langgestreckte, mycelfadenförmige Zellen. Zuweilen erscheint, insbesonders an den mit breiter Basis aufsitzenden Verzweigungen Querwandbildung vorhanden zu sein; doch stellte sich heraus, daß es sich nur um schmale Plasmastreifen handelte, welche sich zwischen großen Vakuolen befanden.

Vereinzelt konnten in den Vakuolen der langgestreckten Zellen kristallähnliche Körper in wimmelnder Bewegung beobachtet werden.

Der Zellinhalt ist relativ blaß, die Glykogenreaktion ziemlich stark.

Charakteristisch ist das Auswachsen der ovalen Zellen zu langen Mycelfäden ohne Querwandbildung mit weiter Verzweigung.

Die Seitenzweige sind breit ausgestülpt.

Ferner sind in älteren

Fig. 4. Pilz No. VII. Sproßverband nach 10 Std.

Kulturen charakteristisch spindelförmige Zellen. Die langen Fäden in den alten Kulturen sind vielfach gewunden.

Sehr bemerkenswert ist die schleimige Beschaffenheit der in der Würze schwimmenden Flocken (Verschleimung der Membran) und die dicke knorpelige Haut auf älteren Kulturen.

Die Haut ist mit dem Messer mit glatter Schnittfläche zu durchschneiden und läßt sich kaum zerdrücken. Diese Eigenschaft ist eine Folge der Verschleimung der Zellmembranen. In diesen alten knorpeligen Häuten herrschen ungemein lange, ungegliederte, dünne Fäden vor. Daneben sind noch Zellelemente, wie sie in jüngeren Kulturen vorkommen, vorhanden.

Hautbildung.

Alle 4 Organismen bilden auf verschiedenen Nährflüssigkeiten bei gewöhnlicher Temperatur kräftige Häute, da ihre Hauptentwicklung die Oberflächenvegetation ist, der gegenüber die Bodensatzentwicklung völlig zurücktritt.

Besonders charakteristisch sind die alten Häute, die die beiden Pilze No. IV und No. VII auf Würze bilden, wegen ihrer knorpeligen Beschaffenheit. Die Häute von No. III und No. V sind derb und zähe zusammenhängend. Im übrigen wird auf den Verlauf der Hautbildung noch in einem folgenden Abschnitt ausführlicher eingegangen werden.

Sporenbildung.

Sporenbildung konnte bei keinem der vier Organismen beobachtet werden.

Weder durch Gipsblockkultur, noch unter sonst für die Sporenbildung günstigen Bedingungen, konnten die Pilze zur Sporenbildung gebracht werden.

Auch alte Tröpfchenkulturen, alte Häute usw. wurden vergeblich nach Sporen abgesucht.

Wachstumserscheinungen in Würze-Tröpfchenkulturen.

Schon 1843 beobachtete Mitscherlich (Berichte über die zur Bekanntmachung geeigneten Verhandl. d. kgl. preuß. Akad. d. Wiss. Berlin 1843) die Sprossung einer einzelnen Zelle von Hefe in Bierwürze in einem zugekitteten mikroskopischen Präparat; auch Pasteur wandte dieses Verfahren an. Durch die von P. Linder (Wochenschr. f. Brauerei. 1893) zuerst angegebene Tröpfchenkultur läßt sich die Vermehrungsweise von Organismen bequem mit dem Mikroskop verfolgen. Die Zeit, innerhalb welcher eine neue Zelle entsteht, schwankt zwischen weiten Grenzen, und es läßt sich daraus im allgemeinen kein Schluß bezüglich der Schnelligkeit des Wachstums ziehen. Den Ausgangspunkt der Beobachtung über die Erscheinungen bei der Sprossung bildeten Tröpfchen, welche eine einzige kräftige Zelle enthielten; diese wurde im Mikroskop eingestellt, und die Entwicklung wurde sowohl bei schwacher (50facher) Vergrößerung als auch bei starker (ca. 700facher) beobachtet.

Mit einem Zeichenokular (von Leitz) wurde mitgezeichnet. Während der Nachtzeit wurden die Kulturen niedrigen Temperaturen ausgesetzt, um ein zu rasches Wachstum hintanzuhalten. Sonst wurden sie bei Zimmer-

temperatur gehalten. Anfangs dauerte es oft 4—6 Stunden, bis die erste Vermehrung eingetreten war. Nach weiteren 6—8 Stunden war dann die Entwicklung meist schon so weit, daß ein Mitzeichnen nicht mehr möglich war.

Die Beobachtung erstreckte sich sowohl auf runde als auch auf langgestreckte Zellen als Ausgangspunkte.

Alle vier Organismen entwickelten zunächst mehr oder weniger runde und ovale Zellen, erst später traten langgestreckte Zellformen auf (vgl. Fig. I mit 4). An den Seiten der Sproßreihen entstanden wieder Zellen, so daß anfänglich mehr oder weniger verzweigte Sproßverbände sich bildeten. Nach einigen Tagen fanden sich dann lange, dünne Fäden, bei denen keine Querwand beobachtet werden konnte. Die Fäden, die nach wenigen Tagen weit über das Tröpfchen hinauswuchsen, gaben der Kolonie ein Aussehen, das fast an das Mycel eines Schimmelpilzes erinnerte.

Das Lichtbrechungsvermögen der Kolonien war ein geringes.

Bei einzelnen Organismen war über das Verhalten in Tröpfchenkulturen folgendes zu beobachten:

Bei No. III: Ob von einer runden oder einer langgestreckten Zelle ausgegangen wurde, es entstanden immer zunächst runde oder ovale Zellen, im weiteren Verlauf der Entwicklung traten mehr langgestreckte Zellformen auf. An den Seiten der Sproßketten entstanden wiederum Zellen, so daß ein ziemlich stark verzweigter Sproßverband sich bildete. Die Glieder der Sproßverbände hingen ziemlich fest aneinander. Nach 24 Stunden waren lange, myceale Zellen (vgl. Fig. I) zu sehen, an denen vereinzelt ovale Zellen saßen, die dann dem Gebilde ein M o n i l i a - artiges Aussehen gaben. Nach 5 Tagen zeigten die Kolonien bei schwacher Vergrößerung ein ziemlich regelmäßiges Bild, indem über einen dichten Kern nach allen Richtungen lange Fäden hinaus gewachsen waren, die teilweise über die Tröpfchen hinausragten und viel Flüssigkeit mit sich zogen. Querwandbildung wurde in den Fäden nicht gefunden, so daß es sich um kein echtes Mycel handeln konnte. Riesenzellen von manchmal wurstförmiger Gestalt waren hie und da zu sehen.

Pilz No. IV. Nach einigen Stunden entwickelten sich runde oder ovale Zellen. Die Sprossung der beobachteten Mutterzelle ging hier (im Gegensatz zu No. III) zunächst hauptsächlich mit gedrungenen (ellipsoidischen) Zellen vor sich. Es bildete sich ein Sproßverband, der sich hauptsächlich nach zwei einander entgegengesetzten Richtungen hin entwickelte (vgl. Fig. 2). Im Gegensatz zu III ist der Sproßverband bei diesem Pilz ein loser, und zwar sind es die ovalen Zellen, die seitlich an langgestreckten Stammgliedern hervorsproßten, welche sich in älteren Kulturen vom Sproßverband ablösen. Diese gedrungenen Zellformen sind bei älteren Kulturen in großer Zahl vorhanden, teils deswegen, weil sie schon im vornherein in größerer Menge entstehen und dann sich mit Zellen von gleicher Größe vermehren, wenn sie vom Sproßverband abgefallen sind. Ferner entstehen auch Sproßketten von diesen gedrungenen Zellen an den langgestreckten Stammgliedern. Das Lichtbrechungsvermögen der Kolonie ist noch geringer als bei No. III.

Pilz No. V wächst in Tröpfchenkulturen ziemlich rasch; einigemal wurde Kronenbildung beobachtet. Anfänglich entstanden sowohl ovale als auch seltener etwas langgestreckte Zellen (vgl. Fig. 3), manchmal auch solche von wurstförmiger, unregelmäßiger Gestalt. Die Zellen des Sproßverbandes hängen nicht fest aneinander. Durch Erschütterungen, später von selbst,

lösen sich Teile davon ab. Nach einem Tag treten mycelförmige Zellen auf; am 3. Tag wachsen diese Fäden strahlenförmig über den Flüssigkeitstropfen hinaus und ziehen Würze mit. Die Fäden sind wenig oder gar nicht verzweigt. Riesenzellen treten bei diesem Pilz häufig auf. In älteren Kulturen sind die Zellen reichlich mit Öltröpfchen durchsetzt. Das Lichtbrechungsvermögen der Kolonien von No. V ist größer als bei den anderen. Die 8 Tage alte Kultur zeigt deutliche Glykogenreaktion.

Pilz No. VII zeigt in den Tröpfchenkulturen die mannigfaltigsten Zellformen (vgl. Fig. 4). Bei der Sprossung entstehen meist gestreckt ellipsoidische Zellen, die an den Enden häufig etwas zugespitzt erscheinen (fast apiculatusförmig). Nach 2—3 Tagen entwickeln sich langgestreckte, mycelfadenförmige Zellen. Die gedrungenen Zellen zeigen kein stärker hervortretendes Ölkörperchen, dafür viele stark lichtbrechende Körnchen. In älteren Kulturen ist charakteristisch das Auftreten von spindelförmigen Zellen. Die 8 Tage alte Kolonie zeigt deutliche Glykogenreaktion. Das Lichtbrechungsvermögen ist verhältnismäßig gering.

Wachstumserscheinungen in größeren Mengen von Nährlösungen.

A. Bei gleichmäßiger Temperatur von 25° C.

Zur völligen Charakterisierung in morphologischer Beziehung waren neben dem Verhalten der Organismen in Tröpfchenkulturen auch die Erscheinungsformen in größeren Mengen von Nährflüssigkeiten in den Kreis der Untersuchungen zu ziehen, da möglicherweise Form, Größe und Inhalt der Zellen durch verschiedene Nährlösungen beeinflußt wird. Ferner konnte auch die Haut- und Bodensatzbildung verfolgt werden. Als Nährflüssigkeiten wurden angewendet:

1) Gehopfte Braunbierwürze von 10 Proz. B.
2) Hefewasser.
3) Hefewasser mit Zusatz von verschiedenen Zuckerarten und Dextrin (Dextrose, Lävulose, Maltose, Milchzucker, Saccharose, Galaktose und Raffinose).

Aufgestellt wurden die Kulturen bei 25°. Als Aussaatmaterial dienten 2 Ösen einer 2—3 Tage alten Würzekultur, womit je 250 ccm der betreffenden Nährlösung geimpft wurden. Die Kolben wurden anfangs täglich, später in Abständen von 2—3 Tagen durchgesehen und die auftretenden Erscheinungen notiert.

1) Wachstumserscheinungen in Würze.

Alle 4 Organismen wachsen bei 25° in Würze gut und bilden auf derselben eine Haut, die aber bei den einzelnen Organismen sowohl bezüglich ihres Aussehens, als auch in bezug auf die Zeit, in der sie sich bildet, Verschiedenheiten aufweist.

Bei No. III sieht man bereits nach 2 Tagen Wachstum, am dritten Tage treten an der Oberfläche zerstreut einzeln liegende, weiße Kolonien, Hautinselchen, auf, von denen aus allmählich die Hautbildung vorwärtsschreitet, indem sich immer mehr solche weiße Kolonien bilden, welche dann nach ungefähr 6 Tagen zu einer geschlossenen, weißen, unregelmäßigen Haut zusammenwachsen. Später sieht die Haut nicht mehr weiß, sondern gelbbraun aus. Die Bodensatzbildung tritt gegenüber der Oberflächenvegetation ganz zurück. Bei Erschütterungen bricht die Haut durch, die Bruchstücke schwimmen dann teilweise in der Flüssigkeit, teilweise setzen sie sich zu

Boden. Nach 3 Monaten ist die Decke namentlich am Rand ziemlich dick (ca. 1 cm) und ist reich gefaltet und gerunzelt.

Zusammengesetzt ist die Haut zum größten Teil aus langen, dünnen, querwandlosen Fäden, an denen manchmal ovale Zellen sitzen.

Pilz No. IV entwickelt sich in Würze verhältnismäßig langsam. Erst am 4. Tag tritt makroskopisch wahrnehmbare Entwicklung auf; am Rand der Flüssigkeitsoberfläche entstehen einzelne gelbliche Kolonien, die allmählich den ganzen Rand als Ring umziehen. Von da aus schreitet die Hautbildung gegen die Mitte zu weiter, so daß nach 10 Tagen die ganze Oberfläche von einer ziemlich glatten Haut bedeckt ist. Charakteristisch ist die rötliche Färbung, die die Haut zeigt. Während die Haut in der Mitte schwach bleibt, nimmt sie am Rand an Dicke beträchtlich zu. Die Bodensatzvegetation tritt vollständig zurück.

Das mikroskopische Bild der Hautpartie zeigt neben langen, sehr dünnen, wenig verzweigten Fäden ovale, verhältnismäßig kleine (3—4 μ) Zellen in sehr großer Anzahl. Diese Zellen liegen meist isoliert, nur selten sieht man sie noch an den Fäden sitzen.

Bei No. V tritt am 3. Tag deutliche Ringbildung auf; die Entwicklung geht dann sehr rasch vor sich. Nach 4—5 Tagen bedeckt die Flüssigkeitsoberfläche eine anfangs feine Haut, die aber im Verlauf der weiteren Entwicklung eine große Mächtigkeit und äußerst reiche Faltung und Runzelung aufweist. Am meisten Ähnlichkeit hat sie mit der Haut von No. III.

Die Haut wird hauptsächlich von langgestreckten Zellen (10—40 μ : 2—4 μ) gebildet, die mit breiter Basis aufeinandersitzen. In den alten Hautbildungen sind die Zellen von großen Öltröpfchen reichlich durchsetzt. Die Haut färbt sich mit 1 Proz. Osmiumsäure rasch schwarz.

Bei Pilz No. VII läßt sich neben einer reichlichen Oberflächenvegetation auch eine deutliche Bodensatzbildung feststellen. Am 3. Tag nach der Impfung ist die Oberfläche bereits vollständig mit einer feinen, fast durchsichtigen Haut bedeckt. Nach einigen Tagen steigt sie bereits an der Glaswand empor (Randbildung). Es tritt dann eine schwache Faltung der bisher glatten Decke auf. Die Faltung zeigt eine ziemlich regelmäßige Anordnung, indem sie radial verläuft. Dabei nimmt die Dicke der Haut immer mehr zu. In älteren Kulturen zeigt die Haut eine ganz charakteristische knorpelige Beschaffenheit. Bemerkenswert ist, daß die dicke, knorpelige Haut direkt mit dem Messer mit glatter Schnittfläche zerschnitten werden kann, was eine Folge der Verschleimung der Zellmembran ist.

In den alten knorpeligen Häuten herrschen ungemein lange, ungegliederte, mit breiter Basis verzweigte Fäden vor; daneben finden sich aber auch noch Zellelemente, wie sie sich in jüngeren Kulturen finden, nämlich Sproßverbände oval-gestreckter Zellen. Charakteristisch ist vor allem auch das Auftreten von an den Enden etwas zugespitzten, fast apiculatusförmigen Zellen und das ziemlich häufige Vorkommen von Riesenzellen.

Wachstumserscheinungen in Hefewasser.

Das Hefewasser wurde nach den Angaben von Will (Zeitschr. f. d. ges. Brauw. Bd. 24. 1901. p. 290) hergestellt. Nach dem Sterilisieren wurde es noch mindestens 8 Tage stehen gelassen und dann mit je 2 Platinösen einer 3 Tage alten, kräftigen Würzekultur geimpft.

Alle 4 Pilze vermögen sich in Hefewasser zu entwickeln, doch ist das Wachstum kein sehr gutes; es dauert längere Zeit, bis einmal eine sichtbare

Vermehrung eintritt; auch kommt es meist nicht mehr zur Bildung einer geschlossenen Haut.

No. III wächst von den 4 Organismen noch in dieser Nährlösung am besten. Nach 3 Tagen treten einzelne weißliche Kolonien an der Oberfläche auf, nach 6 Tagen haben sich diese zu einer Haut vereinigt, die den größten Teil der Flüssigkeit bedeckt.

Bodensatzvegetation tritt fast keine auf. Sonst ist das Verhalten ähnlich wie in Würze.

No. IV zeigt die langsamste Entwicklung; es dauert 5—6 Tage, bis einmal Zeichen einer Vermehrung sichtbar werden. Die Bodensatzbildung ist hier etwas bedeutender als in Würze; anfänglich tritt nur Ringbildung auf, erst nach einigen Wochen bedeckt die Flüssigkeit eine äußerst schwache, deutlich rötlich gefärbte Haut.

Bei No. V ist schon am 3. Tage ein Wachstum zu bemerken. Die Oberfläche ist nach einigen Tagen mit einzelnen weißen runden Kolonien besät, die sich allmählich zu einer lückenhaften Haut zusammenschließen. Diese löst sich leicht los, und die Bruchstücke schwimmen dann teilweise in der Flüssigkeit herum, teilweise setzen sie sich zu Boden. Die Flüssigkeit trübt sich dabei, die Trübung verschwindet aber nach einigen Tagen wieder.

Bei No. VII geht die Entwicklung ähnlich wie bei IV ziemlich langsam vor sich. Nach 6—7 Tagen ist die Lösung mit einer äußerst schwachen, anfangs völlig glatten Haut überzogen, die später bis zu 2 cm an der Glaswand emporsteigt. Daneben wird eine ziemliche Menge Bodensatz gebildet. Die Haut erreicht aber bei weitem nicht die Mächtigkeit wie die auf Würze gebildete.

Wachstumserscheinungen in Hefezuckerwasserlösungen.

In Dextrose-Hefewasser gedeihen die vier Organismen vorzüglich. No. III zeigt schon am 2. Tage eine Vermehrung, es treten einzelne kleine, matte Hautinselchen auf, die innerhalb 2—3 Tagen zu einer lückenlosen Haut zusammenwachsen, die dann später sehr dick wird. Sie bekommt ein gekröseartiges Aussehen. Bodensatz wird wenig gebildet. No. IV zeigt auch in dieser Lösung die langsamste Entwicklung. Die Hautbildung beginnt erst nach 4—5 Tagen, anfänglich bleibt es bei einer Ringbildung, die Haut bleibt verhältnismäßig dünn, anfangs ist sie völlig glatt, nach einigen Wochen ist sie mehr oder weniger stark gefaltet.

No. V zeichnet sich durch seine kräftige Oberflächenvegetation aus. Von einzelnen isoliert liegenden Hautinselchen aus bildet sich im Verlauf von 5—6 Tagen eine lückenlose, stark gefaltete Haut. Wie die Oberfläche der Riesenkolonien dieses Pilzes zeigt auch die Haut, namentlich in Dextrosehefewasser, eine sehr reiche Oberflächengestaltung. Die Bodensatzbildung ist ganz unbedeutend. Bricht die Haut durch Erschütterungen durch, so bildet sich rasch eine neue von derselben Beschaffenheit wie früher.

Bei No. VII läßt sich schon am 2. Tage der Beginn einer Hautbildung beobachten. Auch ist schon eine merkliche Vermehrung des Bodensatzes eingetreten. Die anfangs feine, weißliche Haut wird später sehr dick und fest, am Rand steigt sie bis zu 2 cm empor. Die Flüssigkeit bleibt vollkommen klar.

In Lävulose-Hefewasser sind die Erscheinungen bezüglich Haut- und Bodensatzbildung dieselben, wie sie in Dextroselösung auftreten.

Milchzuckerlösung scheint für die 4 Organismen kein besonders günstiger Nährboden zu sein, da im allgemeinen die Entwicklung in dieser Lösung gegenüber derjenigen in anderen Zuckerlösungen zurückblieb. Sonst sind die Erscheinungen, die sich während des Wachstums zeigen, nicht sehr verschieden von denen in Dextrosehefewasser.

Bei No. III treten zwar die ersten Anzeichen der Hautbildung gleichzeitig mit denen in Dextroselösung auf. Im Verlauf der weiteren Entwicklung bleibt jedoch die Kultur in ihrem Wachstum zurück. Bemerkenswert wäre, daß die Haut auch nach mehreren Monaten eine rein weiße Farbe zeigt. Bei IV sind Anfänge einer Haut- beziehungsweise Ringbildung erst nach 7—8 Tagen bemerkbar. Die Haut bleibt schwach und lückenhaft, die Ringbildung ist ziemlich stark. Bei V löst sich die Haut leicht von der Glaswand des Kolbens los und sinkt dann zu Boden, während an der Oberfläche eine neue gebildet wird.

Bei No. VII ist in Milchzuckerhefewasser die Bodensatzvegetation sehr bedeutend.

Ähnlich wie in Milchzuckerlösungen verhalten sich die Pilze auch in Maltose-Hefewasser. Die Hautbildung tritt verzögert ein.

In Saccharose-Hefewasser wachsen die Pilze sehr gut, im allgemeinen ist hier die Bodensatzvegetation bedeutender.

In Galaktose-Hefewasser wachsen die Organismen ähnlich wie in Milchzuckerlösung. Auffallende Abweichungen konnten nicht beobachtet werden.

In Raffinoselösung kam es bei No. III nur zu einer Ringbildung. Die anderen Organismen zeigten dasselbe Verhalten wie Milchzuckerhefewasser.

In Dextrin-Hefewasser vermögen sich die Pilze verhältnismäßig gut zu entwickeln.

Bei No. III geht anfangs das Wachstum sehr langsam vor sich, erst nach 4—5 Tagen treten die charakteristischen weißen Hautinselchen vereinzelt an der Oberfläche der Flüssigkeit auf. Nach 8—10 Tagen bedeckt die Lösung eine ziemlich starke Haut, die aber nie völlig geschlossen wird, sondern auch nach Monaten noch Lücken aufweist.

No. IV zeigt ein sehr langsames Wachstum. Nach 8—10 Tagen hat sich eine dünne Haut gebildet. Die Lösung ist zeitweise durch losgerissene Teile von Sproßverbänden getrübt.

No. V bildet neben einer kräftigen Haut auch eine beträchtliche Menge Bodensatz.

Bei No. VII beginnt die Hautbildung nach 3—4 Tagen, es bildet sich eine äußerst zarte, glatte Haut, welche nach einigen Monaten eine knorpelige Beschaffenheit annimmt, welche ja für diesen Pilz charakteristisch ist.

Die Fähigkeit, auf der Oberfläche einer passenden Nährflüssigkeit, eine Haut zu bilden, ist eine Eigenschaft, die wir bei allen Sproßpilzen finden, ob sie nun Saccharomyceten oder Nichtsaccharomyceten sind.

Auch die 4 untersuchten Organismen vermögen auf allen angewandten Nährlösungen bei gewöhnlicher Temperatur eine Haut zu bilden, und zwar ist diese als Haut- oder Deckenbildung bezeichnete Oberflächenvegetation das typische Wachstum der vier Organismen, gegen welche die Bodensatzbildung ganz zurücktritt.

Will (Biol. Unters. u. Begutacht. v. Bierwürze, München-Berlin 1909. p. 100) nimmt für die Hautbildung der hauptsächlich im Brauereibetrieb vorkommenden Sproßpilze (Saccharomyceten, Torulaceen und Mycodermen) drei Typen an mit einigen Unterabteilungen.

Typus I: Gleichmäßige Entwicklung über die ganze Oberfläche hin. Die Entwicklung der Haut ist
a) eine rasche,
b) eine langsame.
Typus II: Es entstehen Inselchen, die längere Zeit isoliert bleiben und nicht nur in die Fläche, sondern auch in die Höhe wachsen;
a) Inselchen scharf begrenzt.
b) Inselchen nicht scharf begrenzt.
Typus III: Haut gleichmäßig schleimig (wenigstens anfangs).

Was zunächst das Aussehen oder die Gestaltung der Decken anlangt, so zeichnen sich die Pilze III und V durch ihre unregelmäßig gestaltete Haut aus. Bei No. III nimmt sie ihren Ausgang von isoliert auf der Oberfläche sich entwickelnden, matten Hautinselchen, die allmählich zu einer Decke zusammenwachsen. Ähnlich erfolgt die Hautbildung auch bei No. V.

Bei diesem Pilz konnte auch die Art der Hautentwicklung beobachtet werden, wie sie Meißner (Landw. Jahrb. 1901. p. 505) erwähnt, indem auf der matten Decke weiße Punkte auftreten.

Auf die Erscheinung, daß die Haut nicht die ganze Oberfläche bedeckt und dann wie durchlöchert erscheint, auf welche bei der Untersuchung der Hautbildungen öfter gestoßen wurde, macht schon Lindner (Mikroskop. Betriebskontr. 1898. p. 289) aufmerksam, ebenso wird sie von Will (Zschr. d. ges. Brauw. 1900. p. 21) bei den von ihm untersuchten Mycodermaarten geschildert; auch Meißner (Landw. Jahrb. 1901. p. 505) erwähnt diese Tatsache, für die auch aus vorliegenden Untersuchungen eine Erklärung nicht gefunden werden konnte.

Die Häute der Pilze IV und VII sind mehr regelmäßig.

Ein Emporsteigen an der Wand des Kulturgefäßes, sogenannte Randbildung, erfolgte bei No. VII in allen Nährlösungen, bei No. V nur in Milchzucker- und Maltoselösung.

Die Farbe der Haut ist bei No. III, V und VII im allgemeinen weiß, mit dem Älterwerden der Kulturen wird sie gelblich bis gelbbraun. Die Haut von No. III auf Milchzuckerlösung ist noch nach mehreren Monaten weiß.

Bei VII ist in den ersten Tagen die Haut dünn und farblos, erst später zeigt sie einen weißlichen, später gelblichen Farbenton.

Bei IV ist die Haut anfangs auch meist farblos, nach einiger Zeit zeigt sie eine je nach der Nährlösung mehr oder weniger starke Rotfärbung. Besonders schön ist diese auf Milchzucker- und Dextroselösung.

Als besonders charakteristisch verdient noch hervorgehoben zu werden die bereits erwähnte knorpelige Beschaffenheit der Haut auf älteren Kulturen von Pilz No. VII.

Meißner (Landw. Jahrb. 1901. p. 507) hat in bezug auf die Gestaltung der Haut bei den von ihm untersuchten 35 Kahmhefen folgende fünf Unterabteilungen unterschieden:

1) Runzelung blumenkohlähnlich;
2) Furchen der Runzelung weniger tief;
3) Runzelung gleichmäßiger und feiner;
4) noch feiner und
5) fast gar keine Runzelungen.

Wollte man die Hautbildungen der 4 Pilze in diese Abteilungen einreihen, so würden III und V jedenfalls in die erste, IV in die dritte und VII in die vierte Abteilung zu stehen kommen.

Die Beobachtung Meißners, daß im allgemeinen die runzeligen Decken in stärkerer Mächtigkeit auftreten, fand sich auch bei den beiden

Organismen III und V, deren Decken eine viel stärkere Entwicklung erfuhren als die der beiden anderen Pilze.

Bezüglich der Zeit, innerhalb welcher die ersten Zeichen einer beginnenden Hautbildung auftraten, unterschied sich nur IV von den anderen dadurch, daß diese fast regelmäßig 1—2 Tage später auftrat.

Die Unterschiede, welche Änderungen des Nährbodens bezüglich der Art und Intensität der Hautbildung hervorrufen, sind aus Tabelle 1 ersichtlich. Im allgemeinen sind sie nicht sehr bedeutend.

Bei No. III beginnt die Bildung der Haut fast in allen Nährlösungen gleichzeitig, nur in Dextrinlösung erfolgt sie 1—2 Tage später. In Milchzucker-, Maltose- und Saccharose-Hefewasser bleibt die Haut ziemlich schwach; in Raffinoselösung bleibt es bei einer kräftigen Ringbildung.

Bei IV geht der Hautbildung immer eine Ringbildung voran, die Haut ist immer rötlich gefärbt, am intensivsten in Milchzuckerlösung.

No. V beginnt mit der Hautbildung in allen Nährlösungen, ausgenommen in derjenigen mit Dextrin, gleichzeitig, auch ist die Gestaltung der Haut überall dieselbe. Die Bodensatzentwicklung trat gegen die Oberflächenvegetation völlig zurück.

Bei VII ist die Bodensatzbildung etwas bedeutender.

Mikroskopische Unterschiede in dem Aufbau der Hautbildungen auf den verschiedenen Nährböden konnten nicht festgestellt werden.

B. Wachstumserscheinungen bei verschiedenen Temperaturen.

Als Versuchstemperaturen wurden gewählt:

1) Gleichmäßige Temperatur von 25° C;
2) Zimmertemperatur ca. 17° C;
3) eine Temperatur 7—8° (Hefereinzuchtsraum der Versuchsbrauerei);
4) eine Temperatur von ungefähr 4° C (Gärkeller) und
5) eine Temperatur von ungefähr 1° C (Lagerkeller).

Als Nährflüssigkeit kam 10% gehopfte Braunbierwürze in Verwendung. In 250 ccm Würze wurde mit jungen, kräftigen Zellen geimpft und die Kölbchen (meist je 4 für jeden Organismus und jede Temperatur) an dem betreffenden Ort aufgestellt und regelmäßig beobachtet.

Die Ergebnisse bezüglich Beginn der Hautbildung, sowie der Gestaltung und Beschaffenheit der Haut und der Menge des Bodensatzes sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Bei 25° C bilden alle 4 Organismen in verhältnismäßig kurzer Zeit eine über die ganze Oberfläche sich erstreckende Haut. Die Anfänge einer Deckenbildung sind schon nach 2 Tagen sichtbar.

Bei 17° erfolgt der Beginn der Hautbildung durchschnittlich um einen Tag später, sonst zeigen sich keine Unterschiede.

Die bei 8° aufgestellten Kulturen zeigen schon ein deutlich verzögertes Wachstum, nach 14 Tagen hatte nur No. VII eine völlig lückenlose Haut gebildet, während die Oberflächen der anderen Kulturen nur teilweise mit einer Haut bedeckt waren.

Die Bodensatzvegetation ist eine stärkere als bei höheren Temperaturen. Dies tritt noch deutlicher hervor bei 4° und 1°.

Bei 4° bildet nur mehr VII eine Haut, während es bei den anderen nur mehr zu einer Ringbildung kommt, die bei IV auch nach vier Wochen noch äußerst schwach ist.

Bei 1° zeigen III und V erst nach 11 beziehungsweise 20 Tagen schwache Ringbildung, bei IV war eine solche auch nach 4 Wochen noch nicht erfolgt. No. VII hatte nach 18 Tagen eine äußerst dünne, glatte Haut gebildet, die an Stärke nicht mehr viel zunahm.

Es ist also nur No. VII imstande bei einer Temperatur von 1° auf Würze eine geschlossene Haut zu entwickeln.

Wachstum auf festen Nährböden.

a) Einzellkolonien.

Will (Zeitschr. f. d. ges. Brauwes. Bd. 21. p. 446) hat für die von ihm untersuchten untergärigen Bierhefen drei Wachstumstypen der Einzellkolonien unterschieden, die auch bei anderen Hefen und bei den von ihm untersuchten Sproßpilzen (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. 17, p. 429) auftraten.

Überhaupt dürften diese für alle Sproßpilze maßgebend sein.

Will unterscheidet:

Typus I. Regelmäßige Kolonien von Linsen-, Kugel-, Halbkugel- oder Zapfenform, die Umgrenzung der regelmäßigen Kolonien zeigt nur jene Unebenheiten und Einbuchtungen, welche bei der Aneinanderlegung von rundlichen Körpern immer entstehen.

Typus II. Unregelmäßige Kolonien mit regelmäßigem Kern. Es ragen Sproßverbände über den Rand des regelmäßigen Kerns hervor (platzende Bombe, Polypenform usw.).

Typus III. Völlig unregelmäßige Kolonien. Die Mutterzelle sendet schon von Anfang an nach den verschiedensten Richtungen Sproßverbände, so daß die jugendlichen Kolonien nur aus einem oder mehreren von der Mutterzelle ausstrahlenden Sproßverbänden besteht. Wenn auch später sich neugebildete Zellen der Sproßverbände einlagern und an den überragenden Enden der Sproßverbände sich Zellen angehäuft haben, so findet doch niemals eine Ausgleichung und Abrundung der Kolonien statt (Amöbenform).

Angelegt wurden die Kolonien bei den vorliegenden Untersuchungen in der üblichen Weise und zwar mit 10% Würzegelatine in der Böttcherschen feuchten Kammer. Die Entwicklung wurde an einer markierten, kräftigen, möglichst isoliert liegenden Zelle bei Zimmertemperatur mikroskopisch verfolgt.

Bei dem Pilz No. III gehören die Kolonien fast alle dem Wachstumtypus III an.

Von einem dichten Kern aus wuchsen sehr langgestreckte Zellen heraus, die schließlich sehr lange, querwandlose Fäden bildeten, nach allen Richtungen hin in der Gelatine fortwuchsen. Die Fäden, an denen dann später eine große Anzahl runder oder ovaler Zellen sich entwickelte, zeigten nur geringe Verzweigung. In den runden Zellen traten häufig stark lichtbrechende Körperchen auf.

Die Kolonien des Pilzes No. IV gehörten gleichfalls größtenteils dem Typus III an. Manchmal konnten regelmäßige Kolonien beobachtet werden, doch im Laufe der weiteren Entwicklung verschwand diese Regelmäßigkeit. Anfangs entwickelten sich runde und langgestreckte Zellformen, dann aber sehr lange, dünne, querwandlose Fäden von geringer Verzweigung. An diesen entwickelten sich eine große Anzahl meist runder Zellen, die im Verhältnis zu den in Nährflüssigkeiten in der Regel entwickelten kleiner waren.

Nach 3 Tagen war die Kolonie schon makroskopisch sichtbar.

Bei No. V wurde nur der Wachstumtypus III angetroffen.

Der dichte Kern besteht hauptsächlich aus runden und ovalen Zellen, ferner finden sich sehr langgestreckte Zellformen, die mit breiter Fläche

aneinander sitzen und an deren Berührungsfläche sich meist eine größere Anzahl runder Zellen bildet.

Die junge Kolonie zeigt bereits ein ziemlich starkes Lichtbrechungsvermögen und ist nach 3 Tagen mit bloßem Auge sichtbar.

Der Pilz No. VII zeigt Einzellkolonien, die dem Wachstumtypus II oder III zuzuzählen wären. Die Form der meisten bewegte sich zwischen den beiden genannten Typen. Anfangs wuchsen auch einige Kolonien regelmäßig, von dem dichtern Kern entwickelten sich dann mehr langgestreckte Zellformen, mitunter lange, querwandlose Fäden in geringer Menge.

Makroskopisch sichtbar war die Kolonie am 3. Tag, sie zeigte eine ziemlich starkes Lichtbrechungsvermögen.

Die Wachstumsform in Einzellkulturen in Würzegelatine entspricht bei den vier Organismen fast immer dem Typus III, d. h. die Kolonien zeigen unregelmäßige Form. Manchmal entwickelte sich anfangs ein regelmäßiger Kern, von dem aber dann später unregelmäßig nach verschiedenen Richtungen Verbände von langgestreckten Zellen und lange Fäden herauswuchsen, und später dann der Kolonie ein fadenpilzähnliches Aussehen verliehen.

Das Wachstum geht ziemlich rasch vor sich, so daß nach 2—3 Tagen die Kolonien schon makroskopisch sichtbar werden. Ihr Lichtbrechungsvermögen ist nie besonders groß, am bedeutendsten noch bei den Kolonien von No. V.

C. Wachstumerscheinungen in Riesenkolonien (vgl. Tafel).

Mit dem Namen „Riesenkolonien" bezeichnet P. Lindner (Wochenschr. f. Brauerei 1893. p. 692) solche Oberflächenvegetationen, welche durch Aussaat eines Tröpfchens einer Kultur auf einen festen Nährboden angelegt werden. Der große Vorteil dieser Kulturmethode besteht, wie Lindner mit Recht hervorhebt, vor allem darin, daß die Kolonien leicht photographisch fixiert werden können, da ohne dieses die Riesenkolonien als diagnostisches Merkmal zur Charakterisierung niederer Pilze nur von sehr beschränktem Wert sein würden; denn die Kolonien halten sich verhältnismäßig kurze Zeit, und durch eine Beschreibung allein wird es nicht gelingen, das Gebilde derart zu schildern, daß man sich eine vollständige Vorstellung davon machen kann.

Außerdem muß nach den eingehenden Untersuchungen von Will über den Zusammenhang von Hautbildung und Riesenkolonien den letzteren bei der Charakterisierung der Organismen noch größeres Interesse entgegengebracht werden.

Durch die Riesenkolonien können Gruppen von Arten und Rassen unterschieden werden. Meißner (Landwirtsch. Jahrb. 1901. p. 534) erwähnt über die Riesenkolonien, daß sie uns Unterschiede der Wachstumgeschwindigkeit der einzelnen Rassen bieten, ferner uns zeigen, ob eine wirkliche Reinkultur vorliegt und uns die Wachstumerscheinungen der Kolonie in prägnanter Weise wiedergeben.

Auch Will führt in seinem neu erschienen Buche „Biologische Untersuchung und Begutachtung von Bier usw." p. 117 an, daß bei Beschreibung einer Art eines Sproßpilzes Angaben über Wachstumsform der Riesenkolonien auf verschiedenen Nährböden und bei verschiedenen Temperaturen niemals fehlen dürfen.

Als Nährböden gelangten zur Anwendung:

1) 10 Proz. Würzegelatine,
2) 10 Proz. Sauerkrautwassergelatine und
3) 10 Proz. Kartoffelwassergelatine.

Die Würzegelatine wurde in genügender Menge für alle Versuche aus derselben 10-proz. gehopften Braunbierwürze mit einem Zusatz von 10% Gelatine hergestellt.

Die Herstellung der Sauerkrautwassergelatine geschah aus Sauerkrautwasser, das nach den Angaben von Will (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. 17. p. 700) angefertigt wurde, mit 10% Gelatine (Acidität des Sauerkrautwassers: zur Neutralisierung von 10 ccm Sauerkrautwasser wurden 12,5 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH verbraucht.)

Kartoffelwassergelatine wurde nach den Angaben von Zikes (Mitteil. d. österr. Versuchsstat. f. Brauerei u. Mälzerei Heft 11. 1903. p. 15) angefertigt.

Für die meisten Versuche wurden zur Kultivierung der Riesenkolonien Erlenmeyer-Kölbchen von 120—150 ccm Inhalt verwendet.

Als normale Gelatineschicht wurde eine solche von einer Höhe von 2 cm genommen. Versuchshalber wurden auch Kulturen auf einer Schicht von ½ cm und 3 cm angelegt.

Die Gelatine wurde, nachdem sie in die Kölbchen abgefüllt war, zweimal je ¼ Stunde im Dampftopf sterilisiert.

Behufs photographischer Aufnahme der Kolonien wurden dann die Kölbchen ungefähr in der Höhe der Gelatineschicht abgesprengt.

Als Aussaatmaterial diente eine 3 Tage alte, mehrmals aufgefrischte Würzekultur der Pilze.

Um den Einfluß der Temperatur auf das Wachstum und die Gestaltung der Riesenkolonien zu verfolgen, wurden Parallelkulturen bei verschiedenen Temperaturen aufgestellt und zwar wurden dieselben eingehalten, wie bei den Beobachtungen über Hautbildung, nämlich Zimmertemperatur von durchschnittlich 17° C, dann 8°, 4° und 1½°.

Aus den folgenden Beschreibungen der einzelnen Kolonien wird ersichtlich werden, daß die Wachstumsform, wie auch die Intensität der Entwicklung Verschiedenheiten zwar nicht prinzipieller, aber gradueller Art aufweist.

Würzegelatine erwies sich im allgemeinen für alle 4 Organismen als ein ausgezeichneter Nährboden, alle entwickelten sich darauf rasch, auch erfolgte eine Verflüssigung der Gelatine nicht oder erst ziemlich spät.

Dagegen zeigte sich, daß auf Sauerkrautwassergelatine die beiden Pilze No. IV und VII nicht zur Entwicklung kamen, was nicht mehr verwunderte, da vorher durch einen Versuch festgestellt wurde, daß die beiden Organismen sich in Sauerkrautwasser nicht entwickeln konnten (Acidität des Sauerkrautwassers: 10 ccm brauchen zur Neutralisierung 12,5 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH).

Für die beiden anderen Pilze war die Sauerkrautwassergelatine ein wenig günstiger Nährboden, doch kamen sie darauf zur Entwicklung.

Auf Kartoffelwassergelatine wachsen alle 4, wenn auch langsam. Die Kolonien auf diesem Nährboden zeigen eine große Regelmäßigkeit. Die von Will (Centralbl. f. Bekteriol. Abt. II. Bd. 17. p. 437) angeführte Beobachtung, daß sich in den Kolonien auf Kartoffelwassergelatine abnorm gewachsene Zellen häufig finden, konnte bei den hier behandelten Organismen ebenfalls festgestellt werden, was gleich an dieser Stelle erwähnt sei. Bei

den meisten Kolonien auf Kartoffelwassergelatine trat auch die von Will (ebenda p. 437) erwähnte Erscheinung auf, daß die vom Zellbelag freie, anfangs glänzende Gelatineoberfläche erblindete, indem sie milchweiß wird. Die mikroskopische Untersuchung ergab, daß dieser Belag aus feinem Gerinnsel bestand.

Die Temperatur hatte im großen und ganzen keinen durchgreifenden Einfluß auf die Gestaltung der Riesenkolonien, natürlich war ein langsameres Wachstumstempo bei niedrigen Temperaturen zu beobachten. Im allgemeinen traf die von Will angeführte Beobachtung zu, daß bei niedrigeren Temperaturen die Kolonien kompakter und gedrungener sind.

Was den anatomischen Bau der Riesenkolonien betrifft, so wäre darüber kurz folgendes zu bemerken:

Alle in den Riesenkolonien auftretenden Zellformen sind schon von Anfang an in der Kolonie vorhanden, es kommt hier nicht zur Bildung von Mark und Rindenschicht, wie dies Will in seinen Untersuchungen über 4 untergärige Bierhefen bei diesen konstatiert hat, ebenso Hutschisson (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. 1907. p. 417 u. 59).

Auf diesen Unterschied zwischen den meisten Hefen — Ausnahmen finden sich bei luftliebenden Willia-Arten — und den anderen Sproßpilzen weist Will auch in seiner schon öfter erwähnten Arbeit über Sproßpilze ohne Sporenbildung (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. 17. p. 80) hin. Die Riesenkolonien der letzteren weisen schon im Anfang ihre endgültige Gestaltung auf. Bei den meisten Hefen dagegen treten bei den Riesenkolonien analog wie bei den Hautbildungen deutlich zwei Entwicklungsstadien auf.

Die mittlere Partie der Riesenkolonien zeigt meist häufiger runde und ovale Zellformen, während gegen den Rand langgestreckte Zellen mehr in in den Vordergrund treten.

Ferner zeigte sich, daß an der Oberfläche, d. h. an der der Luft zugekehrten Seite runde und ovale Zellen vorherrschen, während in den unteren Partien sehr langgestreckte Zellen und lange dünne Fäden sich fanden.

Damit ist eine Übereinstimmung zwischen den vorliegenden Formen und den Vertretern der zweiten Untergruppe der Torulaceen gegeben.

Für die Riesenkolonien nimmt Will (Biolog. Untersuchg. d. Begutachtung von Bierwürze usw. p. 109) vorläufig drei Grundformen an, die natürlich bei der genaueren Kenntnis der Riesenkolonien einer größeren Anzahl bis jetzt noch nicht studierter Pilze noch einen Zuwachs erhalten werden.

Der ersten Grundform zählt Will die Riesenkolonien der meisten Hefen zu, er unterscheidet dabei 2 Unterabteilungen.

Die Kolonien von Willia-, Mycoderma und vielen Torula-Arten gehören der zweiten Grundform an. Diese ist dadurch charakterisiert, daß die Kolonie nicht in die Gelatine hinwächst und infolgedessen auch keine Anhänge auf der Unterseite besitzt.

Die dritte Grundform beschreibt Will folgendermaßen: sie unterscheidet sich von der zweiten äußerlich nur dann, wenn an verschiedenen Stellen der Oberfläche „kraterförmige“ Erhebungen auftreten, welche später in gekröseartige Faltungen und Kräuselungen übergehen.

Eine wesentliche Verschiedenheit besteht jedoch darin, daß die Kolonien, welche sich aus gemischten Zellformen aufbauen, in die Unterlage mit weit verzweigten Sproßverbänden langgestreckter Zellen hineinwachsen, welche entweder gleichmäßig verteilt, oder in großer Zahl dicht aneinander geschmiegt

sind. Mit der weiteren Ausgestaltung der Oberfläche durch stärkere Entwicklung der Kräuselungen und radial verlaufenden Faltungen vollzieht sich hier auch eine solche der Unterseite.

Die Riesenkolonien des Pilzes No. V dürften wohl der Grundform II zuzurechnen sein, da das Hineinwachsen in die Gelatine wie bei Grundform III fehlt. Ebenso dürften die Kolonien der Pilze No. III und VII der II. Grundform zuzuzählen sein, da auch hier ein Hineinwachsen in die Gelatine nicht erfolgte.

Allgemein ist über die Riesenkolonien zu sagen, daß sie sich durch eine sehr reiche Gestaltung der Oberfläche und damit durch äußerst zierliche Formen auszeichnen. Mit Ausnahme der Kolonien von No. VII zeigen sie auch alle regelmäßig mehr oder weniger dichte Behaarung (Zottenbildung).

Riesenkolonien von Pilz No. III.

a) Würzegelatine.

Die Entwicklung geht sehr rasch vor sich, nach 4 Tagen beträgt der Durchmesser der Kolonie schon 1½ cm. In den ersten Tagen ist die Farbe der Kolonie noch fast reinweiß, dann geht sie immer in schmutziggelb über. Nach 6 Tagen umzieht die äußere Partie ein weißer ca. 1—2 mm breiter Rand, der sich von dem grauweißen Hauptteile der Kolonie scharf abgrenzt.

Nach 20 Tagen zeigt die Kolonie folgendes Aussehen: (Fig. 1.)

Der Belag ist dünn, die Kolonie flach ausgebreitet, die Randlinie schwach gebuchtet; gegen die Mitte zu zeigen sich „wall"-artige Erhebungen, im Zentrum befindet sich eine kleine Einsenkung. Auf den Faltungen ist die Kolonie mit feinen „Zotten" bedeckt. Den äußeren Rand umzieht ein schmaler Streifen eines rein weißen, dünnen Belags. Die Oberfläche ist matt. Wird die Kultur älter, so sieht sie mehr glänzend und schleimig aus.

Innerhalb 3 Monaten erfolgte keine Verflüssigung der Gelatine.

Die Höhe der Gelatineschicht beeinflußt in der Regel die Kolonie von Pilzen nur insofern, als dünnere Schichten leicht austrocknen und damit die Entwicklung hindern.

Während bei den anderen 3 Pilzen eine verschiedene Höhe der Gelatineschicht überhaupt keine Änderungen im Aussehen der Kolonien hervorrief, traten bei No. III deutlichere, wenn auch nur graduelle Unterschiede auf.

Fig. 13 zeigt die Kolonie von Pilz No. III, wie sie sich nach 4 Wochen auf einer Gelatineschicht von ½ cm Höhe entwickelt hatte, Fig. 14 die auf 3 cm hoher Schicht in derselben Zeit gewachsene Kolonie desselben Pilzes.

Während erstere sehr flach ausgebreitet ist und sehr scharf den weißen Rand hervortreten läßt, ist die Entwicklung bei letzterer in die Höhe eine beträchtlichere, wie auch der weiße Rand fehlt. Die Unterschiede traten erst nach 14 Tagen deutlich hervor.

Bei niedrigeren Temperaturen ging natürlich das Wachstum nur langsam vorwärts und wie es gewöhnlich bei niedrigen Temperaturen der Fall ist, waren die Kolonien kompakter und gedrungener.

Fig. 2 zeigt eine Riesenkolonie, die bei 1½° C nach 20 Tagen sich derartig entwickelt hatte. Die Gestalt der Kolonie ist sehr unregelmäßig, die Farbe reinweiß, die sie auch noch nach drei Monaten zeigt. Bringt man die Kulturen wieder in normale Temperaturverhältnisse, so entwickelten sie sich langsam zu Kolonien, wie sie bei diesen Temperaturen überhaupt wachsen.

Die Kolonie auf Sauerkrautwassergelatine, auf welcher dieser Organismus sich im Gegensatz zu No. IV und No. VII, wenn auch langsam entwickelte,

zeigte ein unregelmäßiges Aussehen, doch war eine Ähnlichkeit mit der Riesenkolonie dieses Pilzes auf Würzegelatine leicht herauszufinden.

Die Farbe dieser Kolonie ist schon von Anfang an eine schmutziggraue. Nach 2 Monaten trat langsam Verflüssigung der Gelatine ein.

Auf Kartoffelwassergelatine bildet dieser Pilz regelmäßige, runde Riesenkolonien, die sehr flach ausgebreitet sind und weiße Farbe zeigen. Fig. 3 zeigt eine solche Kolonie im Alter von 3 Wochen. Ein Einwachsen in die Gelatine erfolgt nicht, ebenso nicht eine Verflüssigung der Gelatine innerhalb 3 Monaten.

Die Zellen, aus denen sich die Riesenkolonien zusammensetzen, sind im allgemeinen dieselben, wie sie in den Oberflächenvegetationen auf Flüssigkeiten gefunden wurden. Auf der der Luft zugekehrten Seite herrschen die runden und ovalen Zellformen vor, während auf der Unterseite sich neben langgestreckten Zellen lange, dünne, meist wenig verzweigte Fäden finden. In den runden und ovalen Zellen findet man meist ein lichtbrechendes Körperchen.

Die „Zotten" bestehen aus etwas langgestreckten Zellen mit meist homogenem Inhalt.

Zu erwähnen wäre noch, daß in den Sauerkrautwasser- und Kartoffelwassergelatinekulturen Riesenzellen häufiger auftreten.

Riesenkolonien von Pilz No. IV.

Wie in Nährflüssigkeiten so zeigt dieser Organismus auch hier das langsamste Wachstum von allen vieren.

Die Kolonien zeigen ein ziemlich regelmäßiges Bild, charakteristisch ist die regelmäßige radiale Faltung. Anfangs sind die Kolonien farblos oder schwach gelblich, später zeigen die bei gewöhnlicher Temperatur gewachsenen eine rötliche Färbung. Die Ausdehnung der Kolonie erfolgt hauptsächlich in der Horizontalebene.

In Fig. 4 ist eine 20 Tage alte Kolonie auf Würzegelatine, aufgestellt bei Zimmertemperatur, abgebildet. Der Durchmesser betrug 4 cm, die Färbung war schwach rötlich, der Rand ist sehr regelmäßig, fein gefranst. Gegen die Mitte zu ist die Kolonie stellenweise mit „Zotten" rauh behaart. Mit dem Älterwerden tritt die rote Färbung zurück, und die Kultur bekommt ein glänzendes und schleimiges Aussehen.

Schon nach 6 Wochen ließ sich eine Verflüssigung der Gelatine feststellen. Bei niedrigeren Temperaturen, namentlich bei $1\frac{1}{2}^0$ tritt natürlich auch hier eine Verzögerung des Wachstums ein. Es bildet sich ein dichter mit warzigen Erhebungen besetzter Kern, von dem aus dann erst später die Strahlung ausgeht.

Fig. 5 zeigt eine solche Kolonie nach 20 Tagen. Die rötliche Färbung tritt bei Kulturen, die unter 8^0 aufgestellt werden, nicht auf; bringt man sie aber später wieder in einen Raum mit Zimmertemperatur, so tritt allmählich die rote Färbung auf.

Auf Sauerkrautwassergelatine kam dieser Organismus ebenso wie in dem Sauerkrautwasser nicht zur Entwicklung, ein Zeichen dafür, daß er nicht imstande größere Säuremengen zu ertragen.

Auf Kartoffelwassergelatine entwickelt sich Pilz No. IV. verhältnismäßig gut, das allgemeine Aussehen zeigt dem der Würzegelatinekolonie gegenüber keine merklichen Unterschiede. Die Behaarung tritt hier namentlich

gegen den Rand zu auf. Die Färbung der Riesenkolonien auf Kartoffelwassergelatine ist eine viel intensivere als bei denen auf anderen Nährböden. Die in Fig. 6 abgebildete Kolonie ist 3 Wochen alt. Nach 4 Wochen bekommt sie in der Mitte eine ziemlich tiefe Einsenkung und ein mehr glänzendes Aussehen. Nach 6 Wochen beginnt bereits eine Verflüssigung der Gelatine.

Auf der Oberfläche der Kolonie finden wir hauptsächlich runde oder ovale Zellen, mit stark lichtbrechenden Inhaltskörperchen. In den unteren Partien, sowie gegen den Rand zu sind häufig sehr lange, dünne, querwandlose Fäden mit geringer seitlicher Verzweigung. Riesenzellen sind namentlich zahlreich in den Kartoffelwassergelatinekulturen.

Riesenkolonien von Pilz No. V.

Dieser Organismus weist namentlich auf Würzegelatine ein äußerst üppiges Wachstum auf und liefert zugleich die zierlichsten Kolonien. Diese breiten sich verhältnismäßig rasch über die ganze Oberfläche. Die reichliche Gestaltung tritt aber nicht nur auf der Oberseite auf, sondern auch auf der Unterseite. Die Kolonien wachsen tief in die Gelatine hinein und erreichen oft beinahe den Boden des Kulturgefäßes, jedoch nur mit Faltungen, nicht mit Bündeln von langen Zellen.

Die 20 Tage alte Riesenkolonie auf Würzegelatine (siehe Fig. 7) besitzt einen Durchmesser von 3½—4 cm, unregelmäßig gebuchteten Rand. Neben der ausgedehnten Entfaltung in der Ebene zeigt die Kolonie auch eine bedeutende in der Höhe, sie wird bis 1½ cm hoch. Charakteristisch ist die tiefe Faltung und die rauhe, mehr oder weniger dichte Behaarung durch „Zotten". In 8 Wochen bedeckt die Kolonie bereits die ganze Gelatineoberfläche von 8 cm Durchmesser. Die Farbe ist von Anfang an gelblichweiß. Die Kulturen, die bei 8° und 4° C gehalten wurden, zeigen ganz dasselbe Bild, bei 1½° ist die Kolonie mehr halbkugelförmig (Fig. 8), rein weiß und mit Zotten dicht behaart.

Auch die Kolonien auf Sauerkrautwassergelatine sind denen auf Würzegelatine ganz gleich, nur sind sie von schmutziggrauer Farbe. Die Intensität des Wachstums ist um viel geringer als auf Würzegelatine. Dasselbe gilt bezüglich der Kartoffelwassergelatinekulturen. Nach 3 Wochen (Fig. 9) hat die Kolonie einen Durchmesser von ca. 2 cm, außerdem zeigt sie namentlich gegen den Rand zu deutliche radiale Streifung. Die Farbe ist auch noch nach 3 Monaten eine rein weiße.

Die Oberfläche und die Zotten setzen sich zum großen Teil aus mehr oder weniger langgestreckten Zellen zusammen, die mittlere Partie weist sehr langgestreckte Zellen auf, die mit breiter Basis aufeinandersitzen. Die Zellen sind namentlich in älteren Kolonien reichlich mit großen Öltröpfchen durchsetzt. Riesenzellen sind bei Riesenkolonien auf Würzegelatine selten, häufiger bei denen auf Kartoffelwasser- und Sauerkrautwassergelatine.

Riesenkolonien von Pilz No. VII.

Die Riesenkolonien dieses Pilzes zeigen nicht die zierlichen Formen, die für die drei anderen Organismen charakteristisch sind.

Auf Würzegelatine bei gewöhnlicher Temperatur entsteht innerhalb 3—4 Tagen eine runde weißliche Kolonie von trockenem Aussehen. Im Lauf der weiteren Entwicklung wird dieselbe mehr schleimig und glänzend; in der Mitte bildet sich eine Einsenkung.

Eine 20 Tage alte Kolonie, wie sie in Fig. 10 zu sehen ist, läßt sich ungefähr folgendermaßen beschreiben:

Die Randlinie verläuft manchmal sehr unregelmäßig, die Oberfläche ist mit kleinen Warzen besetzt, wie solche bei den Riesenkolonien von Torulaceen auftreten; in der Mitte ist die Kolonie meist tief eingesunken; die Riesenkolonie, welche einen Durchmesser von ca. 3 cm hat, zeigt ein gelbbraunes, schleimiges Aussehen.

Bemerkenswert ist, daß bei diesem Organismus verhältnismäßig rasch eine Verflüssigung der Gelatine erfolgte. Sehr oft begann dieselbe schon nach 3 Wochen. Bei Kartoffelwassergelatine trat die Verflüssigung nie vor 1½ Monaten ein.

Bei niedrigen Temperaturen kultiviert zeigen die Riesenkolonien auf Würzegelatine ein trockenes, mattes Aussehen. Bei 1½° zeigen die Kolonien über die ganze Oberfläche eine zottige Behaarung.

Fig. 11 zeigt die Kolonie, wie sie sich bei 1½° nach 3 Wochen entwickelt hatte.

Wie schon erwähnt, gelang es nicht diesen Organismus auf Sauerkrautwassergelatine zur Entwicklung zu bringen, auch in Sauerkrautwasser wuchs er nicht.

Auf Kartoffelwassergelatine gedeiht dieser Pilz am besten von allen vieren. Die Kolonie zeigt hier eine ziemlich regelmäßige Gestalt.

In Fig. 12 ist eine 3 Wochen alte Riesenkolonie auf Kartoffelwassergelatine abgebildet. Sie hat 3 cm Durchmesser, wenig gebuchteten Rand, sieht rein weiß aus; gegen den Rand zu läßt sich deutlich eine radiale Streifung erkennen. Gegen die Mitte zu erhebt sie sich wallartig und zeigt in der Mitte eine kleine Einsenkung.

Was den anatomischen Bau der Riesenkolonien anlangt, so wäre darüber kurz folgendes zu bemerken.

In den mittleren Partien der Kolonien herrschen mehr die gedrungenen Zellformen vor, während gegen den Rand zu mehr Verbände von langgestreckten Zellen, dünne, wenig verzweigte, querwandlose Fäden in den Vordergrund treten.

Die „Zotten" der Kolonien auf Kartoffelwassergelatine bestehen fast ausschließlich aus runden oder ovalen Zellen mit homogenem, manchmal gekörntem Inhalt. Lichtbrechende Inhaltskörper fehlen.

Ein Hinwachsen der Kolonien in die Gelatine erfolgte nicht, daher sind die Kolonien wohl der Grundform II zuzuzählen.

Aus den Abbildungen und aus den obigen Beschreibungen der Riesenkolonien der vier Organismen ist zu ersehen, daß sich dieselben alle durch ihre zierlichen Formen auszeichnen.

Die beiden Pilze III und V, die sich durch ihre stark gefalteten und meist mächtigen Hautbildungen auszeichnen, zeigen auch in ihren Riesenkolonien die reichste Gestaltung, während der Pilz No. VII, der auf Nährflüssigkeiten immer eine verhältnismäßig glatte Haut bildet, in seinen Kolonien nur wenig Zeichnung zeigt. Auf Kartoffelwassergelatine entwickelten sich die Organismen langsamer, die Kolonien hatten mehr regelmäßige Form und mehr mehlig trockenes Aussehen.

Verflüssigung der Gelatine trat nur bei No. VII innerhalb 4 Wochen ein, während bei anderen dieselbe nach 3 Monaten noch nicht erfolgte.

Kurze Zusammenfassung des morphologischen Teiles.

Die Zellformen, die bei den 4 Pilzen auftreten, sind von einer weitgehenden Verschiedenheit.

In älteren Kulturen treten Verbände von langgestreckten Zellen und gedrungene Zellen auf. Die letzteren vermehren sich meist durch Sprossung, teilweise wachsen sie zu mycelähnlichen Fäden aus. Anfänglich entstehen mehr gedrungene Zellen, später überwiegen in den meisten Fällen die langen, wenig verzweigten Fäden.

Querwandbildung in den dünnen Fäden konnte nicht festgestellt werden.

In den gedrungenen, für Torulaarten charakteristischen Zellen finden sich in der Regel 1—3 stark lichtbrechende Körperchen.

Bei III und VII konnten Kristalle in den Vakuolen beobachtet werden.

Auf Nährflüssigkeiten bilden sie kräftige Häute.

Die alten Hautbildungen sind bei No. III und No. V derb und zähe zusammenhängend, bei IV und VII aber von einer charakteristischen knorpeligen Beschaffenheit.

Die eigentliche Wachstumsform ist die Oberflächenvegetation, es handelt sich bei den vier Organismen um luftliebende Formen.

Die Bodensatzentwicklung ist meist unbedeutend.

Bei niedriger Temperatur wird die Hautbildung verzögert oder ganz verhindert.

Bei Einzellkulturen in Würzegelatine gehören die Kolonien fast durchweg dem Wachstumtypus III an, d. h. es entwickeln sich unregelmäßige Kolonien.

Die Riesenkolonien zeigen zierliche Formen.

Bei niedriger Temperatur sind die Kolonien gedrungener und kompakter. Eine Verflüssigung der Gelatine erfolgt verhältnismäßig spät.

Am besten entwickeln sich die Riesenkolonien auf Würzegelatine, weniger gut auf Kartoffelwassergelatine.

Auf Sauerkrautwassergelatine kamen überhaupt nur die beiden Pilze No. III und No. V zur Entwicklung, die beiden anderen nicht.

Charakteristisch ist die „Zottenbildung", wie sie namentlich auch bei Monilia-Arten auftritt.

B. Chemisch-physiologisches Verhalten der vier Organismen.

Neben dem Studium der 4 Pilze nach der morphologischen Seite hin wurde auch das physiologische Verhalten derselben in den Kreis dieser Untersuchungen gezogen, und zwar nach vier Richtungen hin; nämlich es wurde geprüft:

1) Das Verhalten gegenüber Zuckerarten,
2) Das Verhalten gegenüber organischen Säuren,
3) Das Verhalten gegenüber Äthylalkohol und
4) Die Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen in Bierwürze.

1) Verhalten der Organismen gegenüber Zuckerarten.

Für die Saccharomyceten, Torulaceen und Mykodermaarten ist das Verhalten gegenüber den Zuckerarten ein wichtiges diagnostisches Merkmal. Um eine vollständige Charakteristik der 4 Pilze zu erhalten, durften natürlich Untersuchungen nach dieser Richtung hin nicht fehlen. Es handelte sich

darum festzustellen, ob die Pilze Zucker überhaupt angreifen und ob sie imstande sind, denselben in Alkohol und Kohlensäure zu zerlegen.

Es wurden Versuche sowohl nach der Kleingärmethode Lindners, als auch solche in größerem Maßstabe zur Verfolgung der chemischen Veränderung der Nährböden angestellt.

a) Untersuchungen mit der Lindnerschen Kleingärmethode (hierzu Tabelle 3).

Durch die von P. Lindner (Wochenschr. f. Brauerei Bd. 17. 1900. p. 336) zuerst angegebene sogenannte Kleingärmethode war man imstande, eine große Anzahl von Organismen auf ihre Gärfähigkeit zu prüfen, wenn auch die dabei gefundenen Tatsachen nur gerade für die Verhältnisse, unter denen eben die Versuche ausgeführt wurden, gelten.

Trotzdem bietet die Methode ein bequemes und rasches Hilfsmittel, Organismen auf ihr Verhalten zu den verschiedenen Zuckerarten zu prüfen.

Bei der Ausführung der Methode wurde nach den Angaben von Lindner (Mikroskop. Betriebskontrolle 4. Aufl. 1905. p. 230) vorgegangen. Als Aussaatmaterial dienten Zellen aus Riesenkolonien. Die Beobachtungszeit wurde nicht über 6 Tage ausgedehnt.

Will (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. 17. p. 612) hat die von ihm dort behandelten Sproßpilze auch nach dieser Richtung untersucht und dabei die Erfahrung gemacht, daß namentlich bei weniger gärkräftigen Organismen das Alter des angewandten Materials einen Einfluß auf das Ergebnis des Versuchs habe, und er hebt hervor, daß bei Untersuchungen von ähnlichen Organismen nach dieser Methode als Einsaatmaterial Kulturen verschiedenen Alters verwendet werden müssen.

Deshalb wurden bei den vorliegenden Versuchen als Einsaatmaterial sowohl 8 Tage alte als auch 14 Tage und 1 Monat alte Kulturen verwendet.

Geprüft wurden die folgenden Zuckerarten: Dextrose, Lävulose, Maltose, Milchzucker, Saccharose, Galaktose und Raffinose, ferner noch Dextrin.

Die Ergebnisse der Versuche sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß im allgemeinen das Gärvermögen der vier Pilze nur ein sehr geringes ist. Starke oder mäßige Vergärung konnte bei keinem der Organismen konstatiert werden. Die durch die Kleingärmethode gefundenen Resultate stimmen auch mit denen überein, wie sie bei den Gärversuchen, die in größerem Maßstabe ausgeführt wurden, gefunden wurden.

Maltose, Milchzucker, Raffinose und Dextrin wird von keinem der vier Pilze vergoren; bei Maltose waren die Ergebnisse manchmal etwas zweifelhaft, insofern als sich erst nach 4 Tagen einmal einige Gasbläschen zeigten. Doch wurde durch wiederholte Versuche festgestellt, daß es sich auch nicht um eine geringe Gärung handeln konnte, was übrigens auch durch die Versuche in größerer Flüssigkeitsmenge bestätigt wurde.

Am meisten werden angegriffen Dextrose und Lävulose, und zwar ziemlich gleich stark von allen 4 Organismen, Rohrzucker wird zwar vergoren, aber immer nur sehr schwach.

Galaktose wird nur von No. IV und No. VII schwach angegriffen, während die beiden anderen Pilze keine Gärungserscheinung hervorrufen.

b) Verhalten der Organismen zu den Zuckerarten in größeren Mengen von Hefezuckerwasserlösungen (hierzu Tabellen 4—12 und nebenstehende Kurve Fig. 5).

Neben den Untersuchungen nach der Kleingärmethode wurden auch die Gärversuche in größeren Flüssigkeitsmengen durchgeführt.

Da es sich bei den vier Organismen um solche mit geringem Gärvermögen handelt, so konnte bei dieser Versuchsreihe doch viel sicherer festgestellt werden, ob es sich um alkoholische Gärung handelt oder nicht, da die Versuche sich über eine sehr viel längere Zeit erstreckten, als dies bei der vorher beschriebenen Kleingärmethode möglich ist. Außerdem aber wurden die chemischen Veränderungen des Nährbodens verfolgt.

Die betreffenden Zuckerarten wurden in ca. 5proz. Lösung in Hefewasser verwendet. Die Lösungen

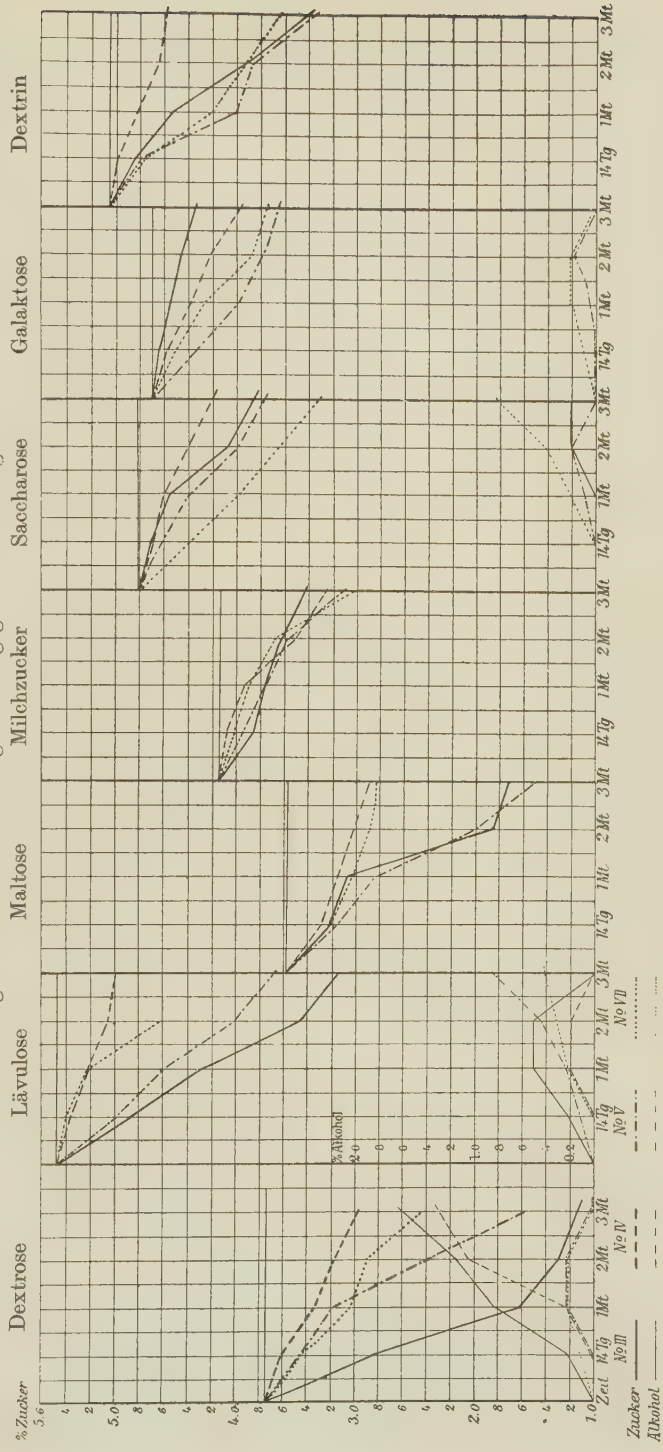


Fig. 5. Verhalten der Organismen gegen Zuckerlösungen.

wurden in Pasteurkolben in Mengen von 200 ccm abgefüllt. Nach dem Sterilisieren wurden die Kolben noch einige Tage stehen gelassen, und dann wurde jeder Kolben mit 3 Platinösen einer 3—4 Tage alten Würzekultur des betreffenden Organismus geimpft und die Kulturen bei Laboratoriumtemperatur (ca. 17° C) aufgestellt.

Für jeden Pilz und jede Zuckerart wurden je 10 Kolben geimpft und daneben je zwei ungeimpfte zu Kontrollanalysen aufgestellt.

Von den Kulturen wurden dann nach 14 Tagen, 1 Monat, 2 Monaten und 3 Monaten je 2 von jedem Pilz zur Untersuchung verwendet. Alle Bestimmungen wurden doppelt ausgeführt. Die Untersuchung der Kontrollflüssigkeiten erfolgte zu Anfang und am Schluß jeder Versuchsreihe.

In den eben genannten Zeitabständen wurden in jeder Nährflüssigkeit bestimmt:

1) Das spezifische Gewicht bei 17,5° C. pyknometrisch;

2) der Säuregrad der Flüssigkeit mit $^1/_{10}$ normal Natronlauge und Phenolphtalein als Indikator;

3) der Zuckergehalt, derselbe wurde gewichtsanalytisch mit Fehling scher Lösung bestimmt (Tabellen von Wein zur quantitativen Bestimmung der Zuckerarten,

die Galaktose nach Steiger (Tollens, Handbuch der Kohlehydrate. Bd. 2. 1895. p. 124);

4) der Stickstoffgehalt nach der Methode von Kjeldahl.

5) der allenfalls gebildete Alkohol durch Destillation; das spezifische Gewicht des Destillats wurde pyknometrisch festgestellt und daraus der Alkoholgehalt mit Hilfe der Tabellen von K. Windisch ermittelt. Qualitativ wurden Spuren von Alkohol mit der Jodoformreaktion nachgewiesen.

Die Versuche wurden mit denselben Zuckerarten, wie sie bei der Kleingärmethode verwendet wurden, mit Ausnahme der Raffinose ausgeführt.

Anschließend an die Erörterungen über das Verhalten der Organismen gegenüber Zuckerlösungen sollen Angaben folgen über die Veränderungen, die die vier Pilze in Hefewasser ohne Zuckerzusatz und in gehopfter Braunbierwürze verursachen.

Die Analysenresultate sind in den Tabellen No. 5 bis 13 einschließlich zusammengestellt. Außerdem ist der Zuckerverbrauch und die Alkoholbildung in Fig. 5 graphisch dargestellt.

1) Verhalten zu Dextroselösung, Tabelle No. 4.

Dextrose wird von den 4 Pilzen ziemlich kräftig assimiliert. Der Zucker wird hier auch zu einem geringen Teil in Alkohol und Kohlensäure gespalten.

Am stärksten ist der Zuckerverbrauch bei Pilz No. III; am geringsten bei No. IV, der in 3 Monaten nur ca. ¾ Proz. Traubenzucker verbraucht hat.

Alkohol wird von jedem der 4 Pilze gebildet, doch ist die Menge desselben bei den einzelnen eine sehr verschiedene. Die Pilze No. V und VII hatten nach 2 Monaten davon nur 0,22 Proz. erzeugt, und nach 3 Monaten waren nur mehr Spuren von Alkohol nachzuweisen. Die Erscheinung, daß der anfangs gebildete Alkohol später wieder zum größten Teil zerstört wird, konnte öfters beobachtet werden, und zwar namentlich dann, wenn die Menge des anfangs gebildeten Alkohols nur eine geringe war.

Die Pilze III und IV dagegen erzeugen in 3 Monaten ein ziemlich bedeutendes Quantum Alkohol, nämlich 1,6 bezw. 1,3 Proz.

Der Säuregrad der Nährlösung hat bei III, V und VII nach 3 Monaten zugenommen, bei No. IV konnte eine Säureabnahme konstatiert werden.

Der Stickstoffgehalt der Nährlösung nimmt hier, wie auch bei den Kulturen in anderen Zuckerlösungen so ziemlich regelmäßig ab, und es konnte dabei nie etwas besonders Auffälliges konstatiert werden.

2) Verhalten zu Lävuloselösung, Tabelle No. 5.

Gegenüber dem Verbrauch an Dextrose ist derjenige an Lävulose ein geringerer, nur No. III macht davon eine Ausnahme, indem dieser Pilz innerhalb der Beobachtungszeit 2,3 Proz. Lävulose aufgebraucht hat. Die geringste Zuckerabnahme fand sich wieder bei No. IV vor. Alkohol erzeugen alle Pilze in dieser Zuckerlösung, den höchsten Alkoholgehalt weist die Kultur von No. V auf, nämlich nach 3 Monaten 0,84 Proz., bei No. VII beträgt er nur etwa die Hälfte davon. Die Kulturen von III und IV weisen am Schluß der Beobachtungszeit nur mehr Spuren von Alkohol auf, während nach 2 Monaten noch 0,5 bezw. 0,2 Proz. gefunden wurden.

Die stärkste Säurezunahme ruft der Pilz No. VII hervor, während sie bei IV und V nur um ein geringes zunimmt, bei No. III resultierte eine kleine Säureabnahme.

3) Verhalten zu Maltoselösung, Tabelle No. 6.

Keiner der 4 Organismen war in dieser Zuckerlösung imstande, alkoholische Gärung hervorzurufen. Dagegen wird Maltose von den Pilzen abgebaut, die Zuckerabnahme ist namentlich bei No. V eine sehr bedeutende, nämlich 2½ Proz., dafür findet man hier auch eine bedeutende Steigerung des Säuregehaltes gegenüber demjenigen in den Maltosekulturen der anderen 3 Organismen, bei denen wohl auch eine Säurezunahme resultierte, doch nur eine äußerst geringe.

4) Im Milchzuckerhefewasser, Tabelle No. 7.

ist das Wachstum der Organismen kein besonders üppiges, der Zuckergehalt der Nährlösung nimmt bei allen so ziemlich gleichmäßig um rund 1 Proz. ab, den geringsten Verbrauch an Milchzucker zeigt die Kultur No. III. Alkohol wird in keinem Falle auch nicht in Spuren gebildet, der Säuregrad erfährt in den ersten Monaten eine kleine Erniedrigung, nach 3 Monaten bleibt aber eine kleine Zunahme an Säure gegenüber der Kontrollflüssigkeit bestehen.

5) Saccharose, Tabelle No. 8, vermögen die 4 Pilze gut zu assimilieren, wenn sie auch nicht imstande sind, bedeutende Mengen Alkohol daraus zu bilden. Als bester Alkoholbildner in dieser Zuckerlösung erwies sich der Pilz No. VII, der nach 3 Monaten 0,8 Proz. Alkohol produziert hatte. Bei den anderen 3 Pilzen übersteigt der Alkoholgehalt nie 0,2 Proz.

Die Schwankungen, die der Säuregrad der Lösung erfuhr, sind äußerst gering, meist wich der nach 3 Monaten gefundene wenig von dem der Kontrollflüssigkeit ab.

6) In der Galactoselösung (Tabelle 9) zeigte sich viel analoges Verhalten wie in Milchzuckerlösung, auch hier wies die Kultur von No. III den geringsten Zuckerverbrauch auf, während in den anderen 3 Kulturen die Abnahme an Galactose rund 1 Proz. betrug. Die Säure nahm nur bei No. VII bedeutend zu, bei den 3 anderen Organismen war die Zunahme gering und untereinander fast gleich. No. III und No. IV erzeugten keinen Alkohol, bei No. V und VII

war die Menge des gebildeten Alkohols im höchstenfall 0,22 Proz., nach 3 Monaten wurden auch bei diesen nur Spuren gefunden.

6) Verhalten in Dextrinlösung. Tabelle No. 10. (Das Dextrin wurde gerichtsanalytisch mit Fehlingscher Lösung bestimmt. — Bücheler Landwirtsch. Brennereibetrieb. S. 266.)

Der Verbrauch an Dextrin ist bei den Organismen im allgemeinen ein ziemlich beträchtlicher, den größten wiesen die Kulturen von No. III und No. V auf, die auch sehr gut sich in dieser Nährlösung entwickelten. Gering ist die Abnahme des Dextringehaltes der Kultur von No. IV. Alkoholbildung konnte in keinem Falle nachgewiesen werden. Die Pilze sind daher wohl imstande, Dextrin zu assimilieren, doch vermögen sie Alkohol daraus nicht zu bilden. Auch eine Bildung von Säure in Dextrinlösung erfolgte nicht oder nur in ganz minimalen Mengen.

Bereits vorher wurde erwähnt, daß auch Hefewasser ohne Zuckersatz als Nährflüssigkeit verwendet wurde und die Veränderungen, die dasselbe bezüglich spezifischen Gewichts, Säuregrades, Stickstoffgehaltes erfuhr, festgestellt wurden. Die Analysenresultate finden sich in Tabelle No. 11.

Hervorgehoben sei vor allem, daß hier in allen Fällen eine Säureabnahme gefunden wurde, ein Zeichen dafür, daß die Organismen dann, wenn ihnen keine andere Kohlenstoffquelle zur Verfügung steht, auch organische Säuren zu assimilieren vermögen. Auf dieses Verhalten wird in einem folgenden Abschnitt noch etwas weiter eingegangen werden.

Verhalten zu Würze. Tabelle No. 12.

Obgleich gehopfte Bierwürze für die 4 Pilze ein ausgezeichneter Nährboden ist, sind die Veränderungen, die sie darin hervorrufen, soweit sie aus den Untersuchungsergebnissen ersichtlich sind, keine sehr bedeutenden.

Das spezifische Gewicht der Würze erfuhr im Höchstfalle nach 3 Monaten eine Erniedrigung von 1,0406 auf 1,0377, was einen Extraktverlust von ca. 0,7 Proz. Balling entsprechen würde.

Der Stickstoffgehalt der Würze zeigte eine ziemlich gleichmäßige Abnahme. Alkohol wurde zwar von den 4 Pilzen erzeugt, doch handelte es sich in allen Fällen um äußerst minimale Mengen. Meist gelingt es, den Alkohol nur, als in Spuren vorhanden, mittels der Jodoformreaktion nachzuweisen. Nach 3 Monaten versagte meist auch diese Reaktion oder war schwächer als nach 2 Monaten.

Die Säure erfährt während der ersten beiden Monate eine fast regelmäßige Zunahme, nach 3 Monaten hat sie dann meist um ein klein wenig abgenommen.

Durch die in größeren Flüssigkeitsmengen ausgeführten Gärversuche fanden sich die schon durch die Kleingärmethode gefundenen Resultate bestätigt, daß die 4 Organismen wohl imstande sind, einige Zucker zu vergären, daß aber die gebildete Alkoholmenge in den allermeisten Fällen eine geringe ist.

2) Verhalten gegen organische Säuren.

Über Säurebildung und Säurezerstörung in Hefewasserzuckerlösungen.

Meißner (Landwirtsch. Jahrbücher. 1901. p. 497) hat in seiner Arbeit über Kahmhefen und kahmhautbildende Saccharomyceten auch seine umfassenden Untersuchungen und Beobachtungen über Säurebildung und Säurezerstörung durch die genannten Organismen veröffentlicht. Er kam zu dem Schluß, daß beide Prozesse, nämlich Säurebildung und Säurezer-

störung, stets nebeneinander herlaufen und die Mehrung oder Minderung der Säuren in dem von ihm angewandten Traubenmost nur auf dem stärkeren Auftreten des einen oder anderen Prozesses beruht; bleibt die Säure dieselbe, so heben sich beide Prozesse in ihren Außenwirkungen auf.

Schon vor Meißner beschäftigte sich Will (Zeitschr. f. d. ges. Brauw. 1899. Eine Mycodermaart. I. Mitteilung. p. 407. 409) mit der Säurebildung seiner Mycodermaart in Würze, Bier und Sauerkrautwasser.

Ob nun der eine oder andere Prozeß den Ausschlag gibt, ist natürlich in erster Linie eine Rasseneigentümlichkeit, wird aber natürlich auch von äußeren Umständen beeinflußt; als solche sind vor allem zu nennen Art und Menge der Nährstoffe, Sauerstoffmangel oder Sauerstoffreichtum usw.

Bereits in dem vorhergehenden Abschnitt, wo das Verhalten der Organismen gegenüber Zuckerarten in größeren Flüßigkeitsmengen behandelt wurde, ist auf die Veränderungen hingewiesen worden, die der Säuregrad der betreffenden Lösung im Laufe der Beobachtungszeit erfährt.

In Würze riefen die Pilze eine Säurevermehrung hervor, in dem letzten Monat der Beobachtungszeit erfolgte meist eine kleine Säureabnahme.

In den Hefezuckerwasserlösungen resultierte nach 3 Monaten in der Regel eine mehr oder weniger bedeutende Erhöhung des Säuregrades, am stärksten war sie in denjenigen Zuckerlösungen, die am meisten angegriffen wurden. Dagegen trat in Hefewasser ohne Zucker stets eine Verminderung der Säure ein. (Dabei ist jedoch noch in Betracht zu ziehen, daß der Säuregrad des Hefewassers sich nicht mit demjenigen in Zuckerlösungen vergleichen läßt, da derselbe in demselben von ganz anderen Säuren herrührt.)

Meißner (Landwirtsch. Jahrbücher. 1901. p. 551) hat über das Verhältnis von Zuckerverbrauch zur Säurebildung den Satz aufgestellt: „Daß diejenigen Moste, bei denen eine Säurebildung als Gesamteffekt resultiert, im allgemeinen zugleich anfänglich starken Zuckerverlust aufweisen, während umgekehrt bei den Mosten, die eine konstante Säureabnahme zeigen, der Zuckerverbrauch seitens der Kahmhefen ein nur geringer ist.“ Und auf Grund weiterer Untersuchungen kommt er zu dem Schluß, daß von einer Einteilung der Kahmhefen in säurebildende und säureverzehrende Rassen abgesehen werden muß, da, wenn aller Zucker verbraucht ist, alle sogenannten Säurebildner zu Säurezerstörern werden.“

Diese Beobachtungen Meißners treffen bis zu einem gewissen Grade auch bei den hier behandelten Pilzen zu.

Sie repräsentieren sich im allgemeinen als Säurebildner, in dem Zuckerfreien Hefewasser als Säurezerstörer. Dieses Verhalten werden wir nachher auch bei dem Versuche mit organischen Säuren finden. Häufig war, daß in den letzten Monaten teilweise eine Zerstörung von Säure stattfand, wenn der Zuckergehalt beträchtlich abgenommen hatte.

No. III ruft in Dextrose-, Milchzucker-, Dextrinlösung und in Würze Säurevermehrung hervor. Eine Verminderung des Säuregrades erfuhr das zuckerfreie Hefewasser und die Nährlösung mit Lävulose.

In Saccharose und Galaktoselösung fand sich am Schluß der Beobachtungszeit fast derselbe Säuregrad als zu Beginn der Versuchsreihe vor.

Bei No. IV fand eine Zunahme der Säure statt, in Würze und den Nährlösungen mit Lävulose, Maltose und Milchzucker, in den anderen Zuckerlösungen zeigten sich nach 3 Monaten keine oder nur minimale Unterschiede gegenüber dem ursprünglichen Säuregrad.

No. V ist von allen 4 Organismen der kräftigste Säurebildner, er verursacht in allen Zuckerlösungen eine Zunahme der Säure, nur in dem zuckerfreien Hefewasser findet eine Zerstörung von Säure statt.

No. VII erwies sich in den Zuckerlösungen, nicht in Dextrinlösung, ebenfalls als ein Säurebildner.

Außer dieser Verfolgung des Säuregrades in den Zuckerlösungen wurden noch Versuche nach der Richtung hin angestellt, wie sich die 4 Organismen organischen Säuren gegenüber verhalten. Es sollte festgestellt werden

a) wieviel von diesen Säuren, d. h. welche Konzentration, sie ertragen können und

b) wieviel sie von einer gewissen Menge dieser organischen Säuren in einer bestimmten Zeit abzubauen vermögen.

Als Nährflüssigkeit wurde zu diesen Versuchsreihen zuckerfreies Hefewasser verwendet.

Bei Ausführung des ersten Teils des Versuchs, durch welchen festgestellt werden sollte, wie viel die Organismen von den einzelnen Säuren zu ertragen vermögen, wurden zunächst größere Mengen Hefewasser mit je $^1/_4$, $^1/_2$, 1 und 2 Proz. der betreffenden Säuren hergestellt, diese in Reagenzgläser in Mengen von 15 ccm abgefüllt und dann sorgfältig sterilisiert. Nachdem die so erhaltene Säurehefewasserlösungen nach dem Sterilisieren noch einige Tage gestanden waren, wurden sie mit 3—4 Tage alten, kräftigen Kulturen der 4 Organismen geimpft.

Geprüft wurden die folgenden organischen Säuren:

Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure, Oxalsäure, Milchsäure, Weinsäure, Zitronensäure, Bernsteinsäure und Äpfelsäure; die Mengen, die davon dem Hefewasser zugesetzt wurden, betrugen $^1/_4$, $^1/_2$, 1 und 2 Proz.

Aufgestellt wurden die Kulturen bei 25°. Ameisensäure, Buttersäure und Oxalsäure ließen selbst in den Mengen von $^1/_4$ Proz. keinen der Pilze zur Entwicklung gelangen.

Die Beobachtungen gegenüber den anderen Säuren sind in Tabelle No. 13 zusammengestellt.

Essigsäure verhindert in einer Menge von 0,5 Proz. bei allen Pilzen eine Entwicklung, $^1/_4$ Proz. Essigsäure verträgt nur No. IV nicht, während die andern sich in einer solchen Lösung entwickeln, am besten und raschesten gedeiht bei $^1/_4$ Proz. Essigsäure No. III; bei V und VII wird durch diese Säure die Entwicklung sehr gehemmt, denn während die Kontrollkulturen ohne Säurezusatz bereits nach 4—5 Tagen deutliches Wachstum zeigten, konnte solches bei den Essigsäurekulturen erst nach 10 Tagen beobachtet werden.

Milchsäure wird von No. III und V in Mengen von 2 Proz. noch gut vertragen, die Entwicklung wird nur wenig verzögert. Dagegen entwickeln sich die beiden andern Pilze IV und VII schon bei $^1/_2$ Proz. Milchsäure nicht mehr, durch $^1/_4$ Proz. wird deutliche Verzögerung der Entwicklung hervorgerufen.

Zitronensäure, Äpfelsäure und Bernsteinsäure verzögern selbst bei einem Zusatz von 2 Proz. das Wachstum nur sehr wenig, sonst aber vermögen sich die Organismen sehr gut bei Gegenwart dieser Säuren zu entwickeln.

No. IV und VII sind auch gegen diese Säuren sehr empfindlich, No. IV kommt in Lösungen mit $^1/_4$ Proz. der betreffenden Säuren schon nicht mehr zur Entwicklung, No. VII verträgt davon nur $^1/_4$ Proz., während $^1/_2$ Proz. schon das Wachstum verhindert.

Aus den vorliegenden Versuchen ergibt sich eine Übereinstimmung von No. III und No. V einerseits, die gegen Säuren sehr widerstandsfähig sich erwiesen, und No. IV und No. VII, die nur sehr geringe Mengen davon vertragen konnten. Die geringe Widerstandsfähigkeit der beiden letztgenannten Organismen gegenüber Säuren, konnte ja schon bei der Besprechung der Riesenkolonien auf Sauerkrautwassergelatine erwähnt werden, indem auf diesem Nährboden die beiden Organismen überhaupt nicht zur Entwicklung gelangten. Auch die Versuche sie in Sauerkrautwasser als Nährflüssigkeit zu kultivieren, mißlangen, während die Pilze No. III und No. V darin zu wachsen vermochten. Im zweiten Teil dieser Versuchsreihe sollte nachgewiesen werden, ob und wieviel organische Säuren von den Pilzen verbraucht werden. Als Nährflüssigkeit kam wieder Hefewasser zur Anwendung, dem ungefähr ¼—½ Proz. der betreffenden Säuren zugesetzt wurden. Nach 8 und 21 Tagen wurde der Säuregrad der Kulturflüssigkeit durch Titration mit $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge und Phenolphtalein als Indikator ermittelt. Zu Anfang und am Schluß wurde der Säuregrad der Kontrollflüssigkeit festgestellt; es ergaben sich zwischen dem Säuregrad der Lösung zu Beginn und dem am Schluß der Beobachtungszeit keine Differenzen.

Der Pilz No. IV., der sich als besonders säureempfindlich erwies, wurde bei diesen Versuchen außer Acht gelassen.

Die Resultate zeigt die Tabelle No. 14.

Aus den Zahlenangaben der Tabelle geht hervor, daß in allen Nährlösungen eine mehr oder weniger bedeutende Säureverminderung erfolgte.

Essigsäure wird ziemlich stark angegriffen, am bedeutendsten von No. III, der davon ¾ der zugesetzten Menge verbraucht.

Ebenfalls in größerer Menge wird von allen 3 Pilzen Bernsteinsäure assimiliert.

Dagegen ist die Abnahme des Säuregrades in den Lösungen mit Milchsäure und Weinsäure nur eine geringe; dasselbe Verhalten fand sich bei den Pilzen V und VII gegenüber den Kulturflüssigkeiten mit Zitronen- und Äpfelsäure. Bei der Kultur des Pilzes No. III dagegen ist der Verbrauch von den beiden letztgenannten Säuren wieder ein bedeutenderer.

Bezüglich des Verlaufs der Säureverminderung ergibt sich aus der Tabelle, daß anfangs, in den ersten 8 Tagen, verhältnismäßig wenig Säure verzehrt wird.

Die größte Säureabnahme wiesen die Kulturen des Pilzes No. III auf. Die beiden anderen sind in diesem Verhalten einander ziemlich gleich.

3) Verhalten gegen Alkohol.

Da das Verhalten der Pilze gegenüber Alkohol mit zur Charakterisierung derselben verwendet werden konnte, so wurden auch nach dieser Richtung hin Versuche angestellt, durch welche einmal festgestellt werden sollte, welche Alkoholmengen das Wachstum der Organismen hemmen, und ferner inwieweit Änderungen im Alkoholgehalte durch die Pilze hervorgerufen werden.

Als Nährboden wurde angewendet 10 Proz. gehopfte Braunbierwürze, die mit den entsprechenden Alkoholmengen versetzt wurde.

Zur Feststellung des Alkoholmaximums, welche die Organismen vertragen können, ohne daß ihre Entwicklung aufgehoben wurde, ist Würze mit folgenden Alkoholmengen versetzt worden:

½, 1, 2, 3, 5, 7 und 10 Proz.

Angewendet wurden je 15 ccm der betreffenden alkoholischen Würze in Reagenzgläsern, die man, nachdem man ihrer Sterilität sicher war, mit jungen Würzekulturen des betreffenden Pilzes impfte. Die Versuchsreihe wurde stets vierfach durchgeführt, ebenso wurde auch gleichzeitig eine Würze ohne Alkoholzusatz geimpft und die Entwicklung mit den anderen Kulturen verfolgt. Aufgestellt wurden die Reagenzgläser bei Zimmertemperatur von ca. 17° C.

Deutliche Entwicklung nach:

Alkoholmenge	No. III	No. IV	No. V	No. VII
0%	3 Tage	3— 4 Tage	3 Tage	3 Tage
½%	3 „	3— 4 „	3 „	3 „
1%	3 „	4 „	3—4 „	3 „
2%	5—6 „	6—8 „	5 „	6 „
3%	8 „	8—10 „	8 „	8 „
5%	20 „	30 Tage schwach	20 „	30 Tage schwach
7%	30 Tage schwach	—	—	—
10%	—	—	—	—

Bis zu 1 Proz. Alkoholzusatz hat keinen merklichen Einfluß auf das Wachstum. Auch Meißner (Landw. Jahrb. 1878. p. 735, Studien über das Zähewerden von Wein und Most) hat bei seinen Versuchen über das Verhalten von Schleimhefen gegenüber Alkohol die Erfahrung gemacht, daß ein Alkoholgehalt bis zu 1 Proz. einen kaum merkbaren Unterschied hervorruft.

Bei einem Alkoholgehalt von 2 Proz. trat eine merkliche Verzögerung in der Entwicklung ein, wie dies aus obiger Zusammenstellung ersichtlich ist.

5 Proz. Alkohol hob das Wachstum zwar noch nicht ganz auf, doch wurde es sehr gehemmt, erst nach 20—30 Tagen konnte deutliche Entwicklung beobachtet werden.

Über einen Monat die Beobachtungszeit auszudehnen, schien mir ohne Zweck, da durch Verdunstung der Alkoholgehalt der Nährlösung doch merklich zurückgeht. Durch einige Kontrollversuche ergab sich, daß der Alkoholgehalt durch Verdunstung innerhalb eines Monats in der Regel um ¼—½ Proz. zurückging.

Meißner (Landw. Jahrb. 1898. p. 735) führt bei der Besprechung des Verhaltens seiner Schleimhefen Alkohol gegenüber auch an, daß 9 Proz. Alkohol die betreffenden Organismen nicht tötete, sondern nur in ihrer Entwicklung hemmte. Die vorliegenden Organismen zeigten ein ähnliches Verhalten, nach 14 Tage langem Verweilen in 7—8 Proz. Alkohol erwiesen sie sich noch als entwicklungsfähig, wenn sie in eine ihnen entsprechende Nährlösung kamen. Die Organismen waren also nicht abgetötet, vielmehr befanden sie sich in einem Zustand, den man als Alkoholstarre bezeichnen kann.

Der zweite Teil dieser Versuchsreihe betraf den eventuellen Verbrauch an Alkohol durch die Pilze festzustellen.

Als Nährlösung diente Hefewasser, wie es schon öfters angewendet wurde, dem ungefähr 2 Proz. Alkohol zugesetzt worden waren; dieses wurde in Mengen von je 100 ccm in Kolben abgefüllt und mit den Organismen geimpft.

Nach 14 Tagen und nach 4 Wochen wurde der Alkoholgehalt der Nährlösung sowohl in den einzelnen Kulturen, als in den am selben Orte aufgestellten Kontrollflüssigkeiten, durch Destillation bestimmt. Aufbewahrt waren die Kulturen bei Zimmertemperatur von ungefähr 17° C. Der Alkoholgehalt der Kontrollflüssigkeit betrug nach 14 Tagen 2,02 Proz und nach 4 Wochen 1,90 Proz.

	% Alkohol nach 14 Tagen	gegenüber der Kontrollfl. Abnahme in 14 Tagen	% Alkohol nach 4 Wochen	gegenüber der Kontrollfl. Abnahme in 1 Monat
No. III	1,69	0,33	1,47	0,43
No. IV	1,91	0,11	1,70	0,20
No. V	1,60	0,42	1,32	0,58
No. VII	1,60	0,42	1,38	0,52

Aus vorstehender Tabelle geht hervor, daß wohl Alkohol von den 4 Pilzen verbraucht wird, doch beträgt die Abnahme des Alkoholgehaltes im höchsten Falle nur ein wenig über ½ Proz. in einem Monat, bei No. IV nur 0,2 Proz.

Hefewasser erwies sich als ein wenig günstiger Nährboden für die Pilze, durch den Alkoholgehalt wird die Entwicklung derselben ebenfalls mehr oder weniger verzögert. Es ist deshalb natürlich, daß das Wachstum in diesem alkoholischen Hefewasser äußerst langsam erfolgte, und auch nie eine starke Entwicklung erreicht wurde.

4) Widerstandsfähigkeit der Organismen gegen Erhitzen in Bierwürze.

Will (Lafar, Handb. d. techn. Mykol. Bd. IV. p. 294) erwähnt bei den Torulaceen, daß auch die Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen unter Umständen ein brauchbares diagnostisches Merkmal zu bilden vermag, erwähnt aber auch, daß sie je nach der Art, der Einwirkungsdauer und der Zusammensetzung des Substrates, in und auf dem sie sich befinden, verschieden sein kann.

Auch Meißner (Landw. Jahrb. 1901. p. 571) hat seine Kahmhefen auf dieses Verhalten geprüft.

Um bei den hier behandelten Pilzen ihre Widerstandsfähigkeit gegen höhere Temperaturen festzustellen, wurde folgende Versuchsanstellung gewählt:

Je 15 ccm 10-proz. gehopfte Würze wurden in Reagenzgläsern abgefüllt, sterilisiert und mit einer jungen kräftigen Kultur des betreffenden Pilzes geimpft (und zwar vorsichtig, damit nicht mit der Impfnadel die Wand des Glases gestreift wurde).

Je 4 Proben für jeden Pilz wurden der gewünschten höheren Temperatur 5 Minuten lang ausgesetzt. Die Zeit wurde von da ab gerechnet, wo ein in ein Reagenzglas mit der gleichen Flüssigkeitsmenge eingestelltes Thermometer die betreffende Temperatur zeigte. Das Wasser, in welches die Reagenzgläser eingestellt wurden, reichte mindestens einige cm über die Flüssigkeitsoberfläche in den Gläsern. Als Temperaturen wurden gewählt: 46°, 51°, 56°, 62½° und 66½° C. Aufgestellt wurden die Kulturen dann bei 25°, gleichzeitig mit nichterwärmten Kontrollkulturen.

	Entwicklung nach 00 Tagen			
	No. III	No. IV	No. V	No. VII
46°	+ 5	+ 5—6	+ 5	+ 4
51°	+ 5—6	+ 6	+ 6—7	+ 5—6
56°	+ 6	+ 6	+ 8—9	+ 6
62½°	+ 7	+ 6—8	+ 12	+ 9
66½°	—	—	—	—
nicht erwärmt	+ 3—4	+ 4	+ 3	+ 3

Eine Temperatur von 66—67° wird von den Pilzen auch nicht 5 Minuten lang ertragen, sie werden durch diese Temperaturen getötet. Temperaturen von 62° und abwärts wirken nur insoweit ein, als sie die Organismen in ihrer Entwicklung hemmen.

Schönfeld (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 15. 1898. p. 288) erwähnt eine Torulaart, die in Bier selbst bei einstündigem Erhitzen erst bei 68—75° C abgetötet wurde. Die Widerstandsfähigkeit der Schleimhefen von Meißner (Landw. Jahrb. 1898) bewegte sich zwischen 54,5 und 61°. Bei seinen Kahmhefen fand Meißner (Landw. Jahrb. 1901. p. 571), daß sämtliche bis auf eine in Most einer Temperatur von 61° bei 5 Minuten langer Einwirkung nicht widerstehen konnten. Er fand auch, daß mit zunehmendem Alter die Widerstandsfähigkeit gegen Erwärmen abnimmt.

Will fand bei den von ihm untersuchten 15 Sproßpilzen (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. 10. p. 699), daß sieben eine Temperatur von 60° C in Würze noch aushalten, während die anderen 8 bereits bei ½stündiger Einwirkung dieser Temperatur abgetötet wurden.

Über Farbenänderung in Würze.

Gelegentlich des Studiums des Verhaltens, welches die Pilze in gehopfter Bierwürze zeigten, wurden sie auch darauf geprüft, ob und in welchem Maße sie imstande sind, die Würze zu entfärben. Daß Torulaceen und Mycodermen imstande sind Bierwürze mehr oder weniger merklich zu entfärben, hat neben van den Hulle n. H. van Laer (Wochenschr. f. Brauerei. 1891. p. 954) vor allem Will (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. 1899 p. 391) für eine Mycodermaart und (ebenda 1903. p. 283) für Torulaarten nachgewiesen. Die Farbebestimmung der Würze erfolgte nach der Methode von C. J. Lindner (Zeitschr. f. d. ges. Brauw. 1892. p. 213) mittels der Lindnerschen Verdünnungskolorimeter in den Zeitabständen von 14 Tagen, 1 Monat, 2 Monaten, und 3 Monaten.

Die dabei gefundenen Resultate sind der Tabelle No. 13 angefügt.

Die Entfärbung ist wohl deutlich, doch nur gering, der Unterschied in der Farbentiefe betrug nie mehr als 0,5.

Kurze Zusammenfassung des physiologischen Teiles.

1) Die angewandten Zuckerarten vermögen die Organismen mehr oder weniger gut zu assimilieren, wenn auch die innerhalb des gleichen Zeitraumes verbrauchte Menge bei den einzelnen Organismen und verschiedenen Zuckerarten innerhalb größeren Abständen schwankt.

2) Nur einige Zucker werden zu einem kleinen Teile in Alkohol und Kohlensäure zerlegt. Sowohl durch die Kleingärmethode als auch durch Versuche, die mit größeren Flüssigkeitsmengen ausgeführt wurden, ergab sich, daß die Pilze nur ein geringes Gärvermögen besitzen. Nur Dextrose und Lävulose werden deutlich, Milchzucker, Maltose, Raffinose und Dextrin überhaupt nicht vergoren. In Saccharose- und Galaktoselösungen werden nur äußerst geringe Alkoholmengen gebildet.

3) In den Hefewasserzuckerlösungen und in Würze nimmt der Säuregrad in den meisten Fällen zu, doch ist die Zunahme keine beträchtliche; manchmal ist der Säuregrad am Schluß des Versuchs gleich groß wie anfangs.

Gegenüber organischen Säuren erweisen sich die Pilze No. IV und No. VII als sehr säureempfindlich. Die anderen beiden können größere Mengen bestimmter organischer Säuren nicht nur ohne Schädigung der Vermehrungsfähigkeit ertragen, sie vermögen sogar einen Teil dieser Säuren zu assimilieren.

4) Alkohol wird in Mengen bis zu 5 Proz. ertragen, bei 7 Proz. wurde unter den gegebenen Bedingungen die Entwicklung gehemmt, das Leben aber nicht zerstört.

Der Alkoholverbrauch in alkoholischem Hefewasser ist minimal.

5) Gegenüber höheren Temperaturen erweisen sich die Organismen als ziemlich widerstandsfähig, indem sie noch eine Temperatur von 62½° C 5 Minuten lang ertragen können, ohne abgetötet zu werden.

Zunächst soll nun kurz auf die systematische Stellung der vier Organismen eingegangen werden.

Mit dem Namen Monilia werden Pilze bezeichnet, welche morphologisch zwischen Sproß- und Schimmelpilzen stehen. Unter normalen Ernährungsbedingungen bilden sie sowohl ein Fadenmycel wie ein Sproßmycel. Von der zweiten Untergruppe der Torulaceen unterscheiden sich die Monilien vor allem durch das Fadenmycel mit Querwänden. Große Ähnlichkeit mit den Arten der Gattung Monilia zeigt Sachsia, für welche jedoch vor allem das Vorherrschen des Fadenmycels charakteristisch ist.

Monilia candida, welche die typischen Monilia wuchsformen am schönsten zeigt, wächst in zuckerhaltigen Nährlösungen, besonders in Bierwürze, hefeähnlich. Die Vermehrung durch Sproßzellen ist massenhaft.

Bei den vier Pilzen handelt es sich um Vertreter einer Gruppe, welche neben der Erzeugung von gedrungenen Sproßzellformen durch das Vorherrschen eines mehr oder weniger verzweigten, dünnen, bei einzelnen Arten vielfach hin und her gewundenen Fadenmycels ohne Querwände charakterisiert sind. Darnach sind sie weder bei den Monilien noch bei den Torulaceen unterzubringen. Anfangs treten kurze gedrungene Glieder in größerer Zahl auf, welche sich durch Sproßung oder durch eine zwischen Sproßung und Spitzenwachstum stehende vegetative Fortpflanzungsart vermehren. Doch ist die Vermehrung durch Sproßzellen nicht so massenhaft wie bei Monilia candida oder dem Soorpilz. In älteren Kulturen herrschen die Fadenmycelien gegenüber den Sproßzellen bei weitem vor. Sie entstehen aus den Sproßzellen.

No. III, IV und VII stimmen hinsichtlich der dünnen Mycelien unter sich überein; bei No. V sind derbere, in kürzere Glieder zerfallende Zellreihen von größerem Querdurchmesser vorhanden, bei deren vegetativer Vermehrung wenigstens anfangs ähnliche Bilder zustande kommen, wie sie bei der Keimschlauchbildung der Konidien von Oidien auftreten; teilweise sind diese der Sproßung ähnlich.

Durch den leichten Zerfall des Mycels, wie es ja im allgemeinen bei Monilia der Fall ist, stehen sie trotz der manchmal sehr breiten Querwände, durch welche sie einem gegliederten Mycel sehr ähnlich werden, den Sproßpilzen näher.

Mit der Gattung Torula in ihrer jetzigen Abgrenzung haben die vier Formen nichts zu tun (viel Ähnlichkeit zeigen sie hinsichtlich der Zellformen dem unter der No. 12 von Will beschriebenen Sproßpilz ohne Sporenbildung. cf. Will, Sproßpilze ohne Sporenbildung. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. 17. p. 86). Sie stehen den Monilien nahe, unterscheiden sich von diesen aber durch Mangel an Querwänden in den langen Fadenmycelien.

Jedenfalls sind die vier Pilze in eine der bis jetzt abgegrenzten Gattungen nicht gut unterzubringen.

Nach der Beschaffenheit der Oberflächenvegetationen (Hautbildung) stehen die Pilze III, IV und V den Monilien nahe, namentlich wegen der Derbheit und des festen inneren Zusammenhanges ihrer Häute, ferner auch wegen der Zottenbildung, welche ja allerdings auch bei manchen der bis jetzt zur zweiten Untergruppe der Torulaceen gestellten Formen vorkommt.

No. VII nimmt bezüglich der Beschaffenheit der Haut eine eigene Stellung ein. Die knorpelige Beschaffenheit der Haut ist aber kein Grund, den Organismus aus einer die übrigen Formen umfassenden Gattung auszuschließen, da solche knorpelige Hautbildungen auch bei den Torulaceen der ersten Untergruppe vorkommen.

Nach der Beschaffenheit und charakteristischen Ausgestaltung der Form stehen die Riesenkolonien von III, IV und V denjenigen der Monilien näher, namentlich III.

Die Riesenkolonie von No. VII mit ihrer warzigen Oberfläche steht denjenigen der Torulaceen näher.

Ich schlage vor, solange es uns nicht möglich ist die vorliegenden Organismen in irgendeiner der heute abgegrenzten Gattungen der Sproßpilze im weiteren Sinn, (also derjenigen Eumyceten, welche sich unter normalen Ernährungsbedingungen ausschließlich durch Sproßung fortpflanzen und derjenigen, welche sowohl ein Fadenmycel wie ein Sproßmycel entwickeln können) einzureihen, für diese eine neue Gattung aufzustellen, für welche mir wegen der nahen Verwandtschaft mit den Monilien der Name Pseudomonilia am geeignetsten erscheint.

Diese Gattung würde eine Zwischenstellung zwischen Monilia und den Torulaceen, namentlich der 2. Untergruppe einnehmen und folgendermaßen zu charakterisieren sein:

Zellformen sehr mannigfaltig, in jungen Kulturen herrschen mehr gedrungene Sproßzellen vor, in älteren Kulturen dagegen überwiegt bei weitem ein mehr oder weniger verzweigtes, meist dünnes, querwandfreies Fadenmycel. Vermehrung durch Sproßzellen nicht so massenhaft wie bei Monilia. Die Mycelien entstehen aus den Sproßzellen.

Riesenzellen in älteren Kulturen nicht selten.

Lichtbrechungsvermögen des Zellinhaltes relativ schwach. Stark lichtbrechende Inhaltskörperchen im Plasma der gedrungenen Zellformen in verschiedener Zahl, meist in der Einzahl.

Kräftige Oberflächenvegetation gegenüber der die Bodensatzvegetation völlig zurücktritt, Häute derb und in sich fest zusammenhängend, mitunter auch von knorpeliger Beschaffenheit.

Riesenkolonien ähnlich denen von Monilia; Zottenbildung.

Keine Sporenbildung.

Keine oder nur schwache alkoholische Gärung; die Arten assimilieren Dextrose, Lävulose, Milchzucker, Galaktose, Saccharose und Maltose in verschiedenem Maße.

Organischen Säuren gegenüber verhalten sich die Arten verschieden, einige sind sehr säureempfindlich, andere können größere Mengen organischer Säuren ertragen und einen Teil davon assimilieren. Ein Alkoholgehalt von 7 Proz. hebt die Entwicklung der Arten auf, doch werden die Organismen dadurch noch nicht abgetötet.

Höheren Temperaturen gegenüber erweisen sich die Arten als ziemlich widerstandsfähig, sie vermögen eine Temperatur von 62,5° C 5 Minuten lang auszuhalten, ohne abgetötet zu werden.

Kurze Charakterisierung der vier Organismen.

No. III. **Pseudomonilia albomarginata** n. sp. Sehr verschiedene Zellformen, meist schwach ovale Zellen von 4—6 μ Durchmesser, 1—3 starklichtbrechende Körperchen im Plasma; Kristalle in den Vakuolen.

Die langen Fadenmycelien meist gewunden.

Haut derb und stark gefaltet.

In Einzelkulturen auf Würzegelatine Wachstumstypus III (nach Will) Riesenkolonien von sehr zierlicher Form. Keine Verflüssigung der Würzegelatine innerhalb 3 Monaten. Dextrose, Lävulose und Saccharose werden ziemlich kräftig assimiliert, dabei werden geringe Mengen Alkohol gebildet.

Geringe Säurevermehrung in Zuckerlösungen. Organische Säuren werden zum Teil assimiliert.

No. IV. **Pseudomonilia rubescens** n. sp. In jungen Kulturen runde und ovale Zellen von 3—5 μ Durchmesser, Fadenmycel ähnlich wie bei Pseudomonilia albomarginata (III).

Alte Häute ziemlich hart mit mehr oder weniger deutlicher Rotfärbung. Einzellkultur auf Würzegelatine Wachstumtypus III.

Riesenkolonien auf Würze- und Kartoffelwassergelatine ziemlich regelmäßig und rötlich gefärbt.

In Dextroselösung ziemlich bedeutende Alkoholbildung.

Der Säuregrad der Zuckerlösungen wird wenig verändert.

Sehr empfindlich gegen organische Säuren, nur Milch- und Weinsäure werden in geringer Menge ertragen.

No. V. **Pseudomonilia mesenterica** nov. sp. Sehr unregelmäßige Zellformen, rundliche Zellen von 3—6 μ Durchmesser, gleichzeitiges Auftreten von langgestreckten Zellen (ungefähr in gleicher Menge), die mit breiter Basis aufeinandersitzen.

Die vegetative Vermehrung hat wenigstens anfangs eine gewisse Ähnlichkeit mit der Keimschlauchbildung der Konidien von Oidium, indem an der Mutterzelle seitlich eine Ausstülpung mit breiter Basis erfolgt, ähnlich wie

manchmal bei den Zellen der Saccharomyceten, nicht selten aber bei den Torulaceen auftritt. In alten Kulturen sind die Zellen reichlich mit Öltröpfchen durchsetzt. Mächtige Hautentwicklung, Haut stark gefaltet und gerunzelt. Einzellkulturen Wachstumtypus III. Wachstum der Riesenkolonien, namentlich auf Würzegelatine sehr rasch und üppig, sehr starke Zottenbildung.

Alkoholbildung nur in Lävuloselösung bedeutender.

Die meisten organischen Säuren werden gut assimiliert.

No. VII. **Pseudomonilia cartilaginosa** n. sp. In jungen Kulturen Sproßverbände von schmalgestreckt-ovalen Zellen von 5—6 μ Längsdurchmesser, häufig etwas zugespitzt (apiculatusähnlich) in alten Kulturen langgestreckt. Fadenmycelien, scheinbare Querwandbildung.

Vereinzelt Kristalle in den Vakuolen der rundlichen Zellen.

In älteren Kulturen ist das Auftreten spindelförmiger Zellen charakteristisch. Verschleimung der Zellhaut.

Alte Häute sehr knorpelig.

Ziemlich frühzeitige Verflüssigung der Würzegelatine.

Riesenkolonien wegen der warzigen Oberfläche, ähnlich denen von Torulaceen.

Alkoholbildung nur in Saccharoselösung bedeutender; in Dextrose- und Lävuloselösung gering.

Anhang:

Tabellen 1 bis 14, ferner noch Tafel I.

Tabelle No. 1. Hautbildungen auf verschiedenen Nährlösungen.

Nährlösung.	No. III		No. IV		No. V.		No. VII	
	Tage bis zur beginnenden Hautbildung.	Aussehen der Haut, Menge des Bodensatzes nach 4 Wochen	Tage bis zur beginnenden Hautbildung.	Aussehen der Haut, Menge des Bodensatzes nach 4 Wochen	Tage bis zur beginnenden Hautbildung.	Aussehen der Haut, Menge des Bodensatzes nach 4 Wochen	Tage bis zur beginnenden Hautbildung.	Aussehen der Haut, Menge des Bodensatzes nach 4 Wochen
Würze	3	gelblichweiße, stark gefaltete und gerunzelte, geschlossene Haut, wenig Bodensatz	4—5	starke Ringbildung, rötliche, geschlossene Decke, wenig gefaltet, Bodensatz ganz wenig.	3	Haut gelblich, stark gerunzelt und gefaltet, geschlossen, äußerst wenig Bodensatz.	3	feine, fast glatte, knorpelige Haut, verhältnismäßig viel Bodensatz.
Hefewasser	3	gelblichweiße, stark gefaltete Haut mit Erhebungen, nicht mehr ganz geschlossen, kein Bodensatz	5—6	starke Ringbildung, rötliche, dünne Haut, mehr Bodensatz als in Würze.	3	Haut wie oben, aber nicht ganz geschlossen, wenig Bodensatz.	6	Haut dünn, an der Wand emporsteigend, ziemlich viel Bodensatz.
Dextrose	3	Haut fast noch rein weiß, stark gefaltet, wenig Bodensatz.	4—5	starker Ring, Haut geschlossen, intensiv rot, wenig Bodensatz.	2—3	Haut gefaltet, geschlossen, mit Erhebungen, wenig Bodensatz.	2	ziemlich starke, schwach gestaltete, geschlossene, etwas knorpelige Haut, ziemlich viel Bodensatz.
Lävulose	3	do. wie Dextrose.	4	do.	2—3	do.	2	do.
Maltose	3—4	Haut nicht so stark als wie bei Dextrose, sonst wie bei Dextrose.	5—6	Haut lückenhaft, ziemlich intensiv rot gefärbt, wenig Bodensatz.	3	wie bei Dextrose, nur etwas schwächer.	2—3	wie bei Dextrose, nur etwas schwächer.
Milchzucker	3—4	Haut rein weiß, sonst wie oben.	7—8	wie bei Maltose.	3	wie bei Dextrose, etwas an der Wand emporsteigend.	2	wie oben.
Saccharose	3—4	schwache, nicht geschlossene Haut, mehr Bodensatz.	3	wie bei Dextrose, nur etwas mehr Bodensatz.	3	wie oben, mehr Bodensatz.	2—3	wie oben.
Galaktose	3—4	wie bei Milchzucker.	5—6	wie bei Milchzucker.	3	wie bei Milchzucker.	2—3	wie oben.
Raffinose	3—4	nur kräftige Ringbildung.	4—5	wie bei Milchzucker.	3	wie bei Milchzucker.	2—3	wie oben.
Dextrin	4—5	Haut nicht geschlossen, fast kein Bodensatz.	5—6	schwache, rötliche Haut, Flüssigkeit getrübt, etwas Bodensatz.	4	wie bei Milchzucker.	4	wie oben.

Tabelle No. 2. Hautbildung auf Würze bei verschiedenen Temperaturen.

Temperatur	No. III. Beginn der Haut- oder Ringbildung	No. III. Beschaffenheit der Haut und Bodensatz nach 4 Wochen.	No. IV Beginn der Haut- oder Ringbildung	No. IV Beschaffenheit der Haut und Bodensatz nach 4 Wochen	No. V Beginn der Haut- oder Ringbildung	No. V Beschaffenheit der Haut und Bodensatz nach 4 Wochen	No. VII. Beginn der Haut- oder Ringbildung	No. VII. Beschaffenheit der Haut und Bodensatz nach 4 Wochen
25° C	2	starke, stark gefaltete und gerunzelte Haut, völlig geschlossen, gelblich, sehr wenig Bodensatz.	2	starke Ringbildung, Haut wenig gefaltet, geschlossen, rötlich, sehr wenig Bodensatz.	2	sehr starke, unregelmäßige gefaltete Haut, völlig geschlossen, fast kein Bodensatz.	2	fast glatte, knorpelige, gelbliche Haut, geschlossen, mäßig Bodensatz.
17° C	2—3	Haut etwas schwächer wie oben, sonst kein Unterschied.	4	Haut schwächer wie bei 25°, sonst kein Unterschied.	2—3	Haut nur wenig schwächer, als bei 25°, sonst kein Unterschied.	2—3	do.
7—8° C	4	Haut nicht geschlossen, bricht leicht durch; etwas mehr Bodensatz.	4	Ringbildung kräftig, Haut noch sehr schwach, aber geschlossen, etwas mehr Bodensatz.	4	Nach 4 Tagen Ringbildung, Decke erst nach 4 Wochen vollständig geschlossen, nicht viel Bodensatz.	4	nicht sehr starke, geschlossene Haut, ziemlich viel Bodensatz.
4° C	6	keine geschlossene Haut, Klumpen von weißlichen Kolonien auf der Oberfläche zerstreut, deutlicher Bodensatz.	14	Noch keine Haut nach 4—5 Wochen, nur deutliche Ringbildung, deutlicher Bodensatz.	8	nach 4 Wochen keine Haut, nur kräftige Ringbildung, dagegen etwas mehr Bodensatz als bei 8°.	6	geschlossene, dünne, weiße Decke schon nach 10 Tagen, viel Bodensatz.
1° C	11	Nach 11 Tagen schwache Ringbildung, nach 4 Wochen einzelne weiße Kolonien an der Oberfläche zerstreut, ziemlich viel Bodensatz.	?	nach 4—5 Wochen noch keine Ring- oder Hautbildung, auch sonst keine deutliche Vermehrung sichtbar.	20	nach 20 Tagen schwache Ringbildung; die allmählich kräftiger wird. Nach 4—5 Wochen noch keine Haut, deutliche Bodensatzvegetation.	18	nach 4 Wochen hauptsächlich viel Bodensatz, dann auch eine dünne, völlig glatte Haut.

Tabelle No. 3.

Verhalten der Organismen gegenüber Zuckerarten nach der Kleingärmethode.

	No. III			No. IV			No. V			No. VII			
Alter der Kultur, die als Einsaatmaterial diente	8 Tg.	14 Tg.	1 Mt.	8 Tg.	14 Tg.	1 Mt.	8 Tg.	14 Tg.	1 Mt.	8 Tg.	14 Tg.	1 Mt.	Bemerkungen
Dextrose	$+^3$	$+^3$	$+^3$	$+^3$	$+^3$	$+^3$	$+^4$	$+^4$	$+^4$	$+^4$	$+^4$	$+^4$	
Lävulose	$+^3$	$+^3$	$+^4$	$+^4$	$+^4$	$+^4$	$+^4$	$+^4$	$+^4$	$+^4$	$+^4$	$+^4$	
Maltose	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Milchzucker	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Saccharose	$+^4$	$+^4$	$+^4$	—?	$+^4$	—?	$+^4$	$+^4$	$+^4$	$+^4$	$+^4$	$+^4$	
Galaktose	—	—	—	—	—	—	$+^4$	$+^4$	$+^4$	$+^4$	$+^4$	$+^4$	
Raffinose	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Dextrin	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

+ bedeutet Vergärung.

— keine Vergärung.

Betreff der Stärke der Vergärung habe ich mich an die Unterscheidungen gehalten, wie sie Will (Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 17. p. 613) angibt, nämlich:

1 = starke Vergärung, nach 24 St. die ganze Vertiefung des hohlgeschliffenen Objektträgers von einer Gasblase erfüllt.

2 = mäßige Vergärung, die Vertiefung nach 24 Std. nur zur Hälfte von einer Gasblase erfüllt.

3 = geringe Gärung, nach 24 Std. sehr kleine Gasblasen.

4 = sehr geringe Gärung, nach längstens 4 Tagen Gasblasen in der Flüssigkeit.

Tabelle No. 4.

Verhalten zu Dextrose-Hefewasser.

	No. III							No. IV						
						in 3 Monaten							nach 3 Monaten	
	Kontroll-flüssigkeit	nach 14 Tagen	nach 1 Monat	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten	Zunahme	Abnahme	Kontroll-flüssigkeit	nach 14 Tagen	nach 1 Monat	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten	Zunahme	Abnahme
spez. Gewicht	1,0183	1,0136	1,0079	1,0043	1,0028	—	—	1,0183	1,0176	1,0165	1,0159	1,0150	—	—
cc $\frac{n}{10}$ NaOH pro 100 cc	8,4	8,8	11,2	8,4	15,0	6,6	—	8,4	4,0	5,2	5,2	5,0	—	3,4
% Stickstoff	0,035	0,024	0,021	0,019	0,018	—	0,017	0,035	0,030	0,023	0,014	0,010	—	0,025
% Protein	0,22	0,15	0,13	0,12	0,11	—	0,11	0,22	0,19	0,15	0,09	0,06	—	9,16
% Dextrose	3,74	2,84	1,63	1,30	1,15	—	2,59	3,74	3,62	3,35	3,19	2,98	—	0,76
% Alkohol	—	0,22	0,84	1,16	1,60	1,60	—	—	Spuren	0,22	1,06	1,28	1,28	—

	No. V.							No. VII.						
spez. Gewicht	1,0183	1,0166	1,0144	1,0090	1,0081	—	—	1,0183	1,0164	1,0145	1,0138	1,0123	—	—
cc $\frac{n}{10}$ NaOH	8,4	12,0	16,0	18,8	30,0	21,6	—	8,4	7,2	7,2	14,4	19,0	10,6	—
% Stickstoff	0,035	0,026	0,022	0,020	0,018	—	0,017	0,035	0,022	0,020	0,018	0,018	—	0,017
% Protein	0,22	0,16	0,14	0,13	0,11	—	0,11	0,22	0,14	0,13	0,11	0,11	—	0,11
% Dextrose	3,74	3,48	3,20	2,40	1,56	—	2,18	3,74	3,48	3,05	2,90	2,45	—	1,29
% Alkohol	—	Spur	0,22	0,22	Spur	—	—	—	0,1	0,22	0,22	Spur	—	—

Tabelle No. 5.

Verhalten zu Lävulose-Hefewasser.

	No. III.							No. IV.						
	Kontroll-flüssigkeit	nach 14 Tagen	nach 1 Monat	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten	Zunahme	Abnahme	Kontroll-flüssigkeit	nach 14 Tagen	nach 1 Monat	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten	Zunahme	Abnahme
spez. Gewicht	1,0222	1,0195	1,0170	1,0144	1,0144	—	—	1,0222	1,0212	1,0206	1,0200	1,0200	—	—
cc $\frac{n}{10}$ NaOH pro 100 cc	7,2	6,0	4,0	5,2	5,5	—	1,7	7,2	6,4	4,8	8,0	10,0	2,8	—
% Stickstoff	0,032	0,029	0,028	0,026	0,026	—	0,006	0,032	0,030	0,029	0,020	0,020	—	0,012
% Protein	0,19	0,18	0,17	0,15	0,15	—	0,04	0,19	0,19	0,18	0,13	0,13	—	0,06
% Lävulose	5,49	4,88	4,28	3,48	3,18	—	2,31	5,49	5,39	5,21	5,05	5,00	—	1,49
% Alkohol	—	0,22	0,52	0,52	Spur	—	—	—	Spur	0,22	0,22	Spur	—	—

	No. V							No. VII						
spez. Gewicht	1,0222	1,0201	1,0189	1,0172	1,0165	—	—	1,0222	1,0219	1,0210	1,0190	1,0162	—	—
cc $\frac{n}{10}$ NaOH pro 100 cc	7,2	7,6	8,0	9,2	10,5	3,3	—	7,2	4,8	8,0	12,4	23,0	15,8	—
% Stickstoff	0,032	0,030	0,026	0,022	0,022	—	0,01	0,032	0,032	0,029	0,025	0,020	—	0,012
% Protein	0,19	0,18	0,15	0,14	0,14	—	0,05	0,19	0,19	0,18	0,16	0,13	—	0,06
% Lävulose	5,49	5,00	4,60	4,02	3,68	—	1,81	5,49	5,22	4,64	3,51	3,51	—	1,98
% Alkohol	—	0,1	0,22	0,42	0,84	0,84	—	—	Spur	0,22	0,32	0,42	—	0,42

Tabelle No. 6.

Verhalten zu Maltose-Hefewasser.

	No. III							No. IV						
	Kontroll-flüssigkeit	nach 14 Tagen	nach 1 Monat	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten	Zunahme	Abnahme	Kontroll-flüssigkeit	nach 14 Tagen	nach 1 Monat	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten	Zunahme	Abnahme
spez. Gewicht	1,0163	1,1048	1,0144	1,0100	1,0090	—	—	1,0163	1,0158	1,0157	1,0156	1,0156	—	—
cc $\frac{n}{10}$ NaOH pro 100cc	1,6	4,4	5,0	7,5	3,2	1,6	—	1,6	3,5	1,4	5,5	4,0	2,4	—
% Stickstoff	0,035	0,024	0,020	0,020	0,018	—	0,017	0,035	0,024	0,20	0,014	0,014	—	0,021
% Protein	0,22	0,15	0,13	0,13	0,11	—	0,11	0,22	0,15	0,13	0,09	0,09	—	0,13
% Maltose	3,58	3,25	3,07	1,85	1,72	—	1,86	3,58	3,30	3,18	3,05	2,89	—	0,69
% Alkohol	—	—	Spuren	Spuren	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

	No. V							No. VII						
spez. Gew.	1,0163	1,0144	1,0129	1,0075	1,0075	—	—	1,0163	1,0149	1,0138	1,0134	1,0130	—	—
cc $\frac{n}{10}$ NaOH pro 100cc	1,6	4,4	6,4	7,0	14,0	12,4	—	1,6	4,4	4,8	3,0	2,4	0,8	—
% Stickstoff	0,035	0,024	0,024	0,020	0,020	—	0,015	0,035	0,021	0,016	0,012	0,012	—	0,023
% Protein	0,22	0,15	0,15	0,13	0,13	—	0,09	0,22	0,13	0,10	0,08	0,08	—	0,14
% Maltose	3,58	3,18	2,86	2,00	1,49	—	2,9	3,58	3,25	3,05	2,90	2,83	—	0,75
% Alkohol	—	—	Spur?	—	—	—	—	—	—	Spur?	—	—	—	—

Tabelle No. 7.

Verhalten zu Milchzucker-Hefewasser.

	No. III							No. IV.						
	Kontroll-flüssigkeit	nach 14 Tagen	nach 1 Monat	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten	Zunahme	Abnahme	Kontroll-flüssigkeit	nach 14 Tagen	nach 1 Monat	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten	Zunahme	Abnahme
spez. Gewicht	1,0180	1,0179	1,0176	1,0174	1,0172	—	—	1,0180	1,0179	1,0170	1,0157	1,0150	—	—
cc $\frac{n}{10}$ NaOH pro 100 cc	4,0	6,0	5,0	3,0	9,0	5,0	—	4,0	5,6	3,6	4,8	9,0	5,0	—
% Stickstoff	0,038	0,034	0,025	0,020	0,018	—	0,020	0,038	0,033	0,029	0,024	0,020	—	0,018
% Protein	0,24	0,22	0,15	0,13	0,11	—	0,13	0,24	0,21	0,18	0,16	0,13	—	0,11
% Milchzucker	4,14	3,90	3,75	3,60	3,44	—	0,70	4,14	4,08	3,95	3,52	3,25	—	0,89
% Alkohol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

	No. V							No. VII						
spez. Gewicht	1,0180	1,0169	1,0166	1,0156	1,0149	—	—	1,0180	1,0175	1,0170	1,0161	1,0140	—	—
cc $\frac{n}{10}$ NaOH pro 100 cc	4,0	6,4	4,0	3,6	9,5	5,5	—	4,0	5,6	4,0	7,6	18,0	14,0	—
% Stickstoff	0,038	0,034	0,026	0,020	0,020	—	0,018	0,038	0,032	0,028	0,020	0,018	—	0,020
% Protein	0,24	0,21	0,17	0,13	0,13	—	0,11	0,24	0,20	0,17	0,13	0,11	—	0,13
% Milchzucker	4,14	3,98	3,76	3,57	3,09	—	1,05	4,14	4,02	3,92	3,69	3,04	—	1,10
% Alkohol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle No. 8.

Verhalten zu Saccharose-Hefewasser.

	No. III							No. IV						
	Kontroll-flüssigkeit	nach 14 Tagen	nach 1 Monat	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten	Zunahme	Abnahme	Kontroll-flüssigkeit	nach 14 Tagen	nach 1 Monat	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten	Zunahme	Abnahme
spez. Gewicht	1,0206	1,0200	1,0192	1,0174	1,0152	—	—	1,0206	1,0201	1,0194	1,0180	1,0170	—	—
cc $\frac{n}{10}$ NaOH pro 100 cc	6,0	7,4	9,2	8,2	6,2	+ 0,2	—	6,0	6,2	7,0	6,2	5,6	—	— 0,4
% Stickstoff	0,060	0,054	0,050	0,041	0,040	—	0,020	0,060	0,058	0,084	0,050	0,041	—	0,019
% Protein	0,38	0,34	0,31	0,26	0,25	—	0,13	0,38	0,36	0,34	0,31	0,26	—	0,12
% Saccharose	4,82	4,72	4,58	4,09	3,90	—	0,92	4,82	4,71	4,62	4,40	4,21	—	0,61
% Alkohol	—	Spuren	Spuren	0,22	0,22	+ 0,22	—	—	—	Spuren	Spuren	Spuren	—	—

	No. V.							No. VII						
spez. Gewicht	1,0206	1,0194	1,0186	1,0162	1,0147	—	—	1,0206	1,0189	1,0170	1,0147	1,0132	—	—
cc $\frac{n}{10}$ NaOH pro 100 cc	6,0	7,2	8,0	8,8	6,6	+ 0,6	—	6,0	6,9	8,0	9,2	8,0	2,0	—
% Stickstoff	0,060	0,054	0,050	0,048	0,041	—	0,019	0,060	0,054	0,048	0,040	0,040	—	0,020
% Protein	0,38	0,34	0,31	0,30	0,26	—	0,12	0,38	0,34	0,30	0,25	0,25	—	0,13
% Saccharose	4,82	4,65	4,42	4,01	3,78	—	1,04	4,82	4,45	3,97	3,68	3,34	—	1,48
% Alkohol	—	Spuren	0,1	0,22	Spuren	—	—	—	0,22	0,42	0,84	0,84	0,84	—

Tabelle No. 9.

Verhalten zu Galaktose-Hefewasser.

	No. III							No. IV						
	Kontroll-flüssigkeit	nach 14 Tagen	nach 1 Monat	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten	Zunahme	Abnahme	Kontroll-flüssigkeit	nach 14 Tagen	nach 1 Monat	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten	Zunahme	Abnahme
spez. Gewicht	1,0199	1,0198	1,0195	1,0188	1,0180	—	—	1,0199	1,0190	1,0182	1,0170	1,0158	—	—
cc $\frac{n}{10}$ NaOH pro 100 cc	4,8	5,0	5,8	6,4	5,0	0,2	0,019	4,8	4,6	5,0	4,6	4,8	—	—
% Stickstoff	0,060	0,054	0,050	0,048	0,041	—	0,12	0,060	0,058	0,054	0,050	0,050	—	0,01
% Protein	0,38	0,34	0,31	0,30	0,26	—	0,35	0,38	0,36	0,34	0,31	0,31	—	0,07
% Galaktose	4,72	4,68	4,58	4,49	4,37	—	—	4,72	4,60	4,41	4,26	3,99	—	0,73
% Alkohol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

	No. V							No. VII						
spez. Gewicht	1,0199	1,0180	1,0161	1,0144	1,0140	—	—	1,0199	1,0190	1,0178	1,0158	1,0149	—	—
cc $\frac{n}{10}$ NaOH pro 100 cc	4,8	6,6	9,2	10,4	10,8	6,0	—	4,8	7,0	9,6	9,8	9,2	4,4	—
% Stickstoff	0,060	0,054	0,050	0,048	0,041	—	0,019	0,060	0,054	0,048	0,040	0,038	—	0,022
% Protein	0,38	0,34	0,31	0,30	0,26	—	0,12	0,38	0,34	0,30	0,25	0,24	—	0,14
% Galaktose	4,72	4,36	4,04	3,81	3,69	—	1,03	4,72	4,54	4,36	3,92	3,77	—	0,95
% Alkohol	—	Spuren	0,1	0,22	Spuren	—	—	—	0,1	0,22	0,22	Spuren	—	—

Tabelle No. 10.

Verhalten zu Dextrin-Hefewasser.

	No. III							No. IV						
	Kontroll-flüssigkeit	nach 14 Tagen	nach 1 Monat	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten	Zunahme	Abnahme	Kontroll-flüssigkeit	nach 14 Tagen	nach 1 Monat	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten	Zunahme	Abnahme
spez. Gewicht	1,0191	1,0185	1,0179	1,0159	1,0143	—	—	1,0191	1,0189	1,0184	1,0182	1,0181	—	—
cc $\frac{n}{10}$ NaOH pro 100 cc	4,2	4,4	4,8	5,2	6,2	2,0	—	4,2	4,3	4,6	4,8	4,8	0,6	—
% Stickstoff	0,040	0,035	0,032	0,028	0,018	—	0,022	0,040	0,038	0,035	0,029	0,028	—	0,012
% Protein	0,25	0,22	0,20	0,17	0,11	—	0,14	0,25	0,24	0,22	0,18	0,17	—	0,08
% Dextrin	5,05	4,88	4,56	3,93	3,44	—	1,61	5,05	5,00	4,82	4,66	4,61	—	0,44
% Alkohol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	No. V							No. VII						
spez. Gewicht	1,0191	1,0187	1,0176	1,0155	1,0142	—	—	1,0191	1,0187	1,0178	1,0154	1,0148	—	—
cc $\frac{n}{10}$ NaOH pro 100 cc	4,2	4,8	5,6	6,2	7,2	3,0	—	4,2	4,5	4,8	4,4	4,2	—	—
% Stickstoff	0,040	0,032	0,030	0,026	0,024	—	0,016	0,040	0,035	0,032	0,028	0,025	—	0,015
% Protein	0,25	0,20	0,19	0,16	0,14	—	0,11	0,25	0,22	0,20	0,17	0,15	—	0,10
% Dextrin	5,05	4,82	4,01	3,88	3,38	—	1,67	5,05	4,80	4,22	3,82	3,66	—	1,39
% Alkohol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle No. 11.

Verhalten zu Hefewasser ohne Zuckerzusatz.

	No. III							No. IV						
	Kontroll-flüssigkeit	nach 14 Tagen	nach 1 Monat	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten	Zunahme	Abnahme	Kontroll-flüssigkeit	nach 14 Tagen	nach 1 Monat	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten	Zunahme	Abnahme
spez. Gewicht	1,0020	1,0020	1,0019	1,0019	1,0019	—	—	1,0020	1,0020	1,0018	1,0020	1,0020	—	—
cc $\frac{n}{10}$ NaOH pro 100 cc	4,6	6,0	6,2	4,0	2,0	—	2,6	4,6	3,6	3,2	2,0	1,2	—	3,4
% Stickstoff	0,046	0,044	0,032	0,032	0,029	—	0,017	0,046	0,040	0,032	0,030	0,024	—	0,022
% Protein	0,29	0,28	0,29	0,29	0,18	—	0,011	0,29	0,25	0,19	0,18	0,15	—	0,14
	No. V							No. VII						
spez. Gewicht	1,0020	1,0019	1,0018	1,0019	1,0019	—	—	1,0020	1,0019	1,0018	1,0019	1,0019	—	—
cc $\frac{n}{10}$ NaOH pro cc 100	4,6	3,2	3,4	3,8	4,0	—	0,6	4,6	3,2	3,6	3,0	2,4	—	2,2
% Stickstoff	0,046	0,040	0,034	0,030	0,025	—	0,021	0,046	0,038	0,032	0,025	0,022	—	0,024
% Protein	0,25	0,25	0,21	0,19	0,15	—	0,14	0,29	0,24	0,20	0,16	0,14	—	0,15

Tabelle No. 12.

Verhalten zu gehopfter Braunbierwürze.

	No. III.							No. V.						
	Kontroll-flüssigkeit	nach 14 Tagen	nach 1 Monat	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten	Zunahme	Abnahme	Kontroll-flüssigkeit	nach 14 Tagen	nach 1 Monat	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten	Zunahme	Abnahme
spez. Gewicht	1,0406	1,0399	1,0383	1,0377	1,0377	—	—	1,0406	1,0399	1,0396	1,0396	1,0396	—	—
cc $\frac{n}{10}$ NaOH pro 100 cc	12,0	14,0	15,0	15,0	16,0	4,0	—	12,0	16,0	20,0	18,0	14,0	2,0	—
% Stickstoff	0,075	—	0,067	0,060	0,058	—	0,017	0,075	—	0,060	0,049	0,041	—	0,034
% Protein	0,47	—	0,42	0,38	0,36	—	0,11	0,47	—	0,38	0,30	0,26	—	0,21
% Alkohol	—	—	0,22	0,1	Spuren	—	—	—	Spur	0,1	0,22	Spuren	—	—
Farbentiefe	3,25 (3,2)	3,0	2,9	2,9	2,8	—	0,45	3,25	3,2	3,15	3,15	3,15	—	0,10
% Extrakt n. B.	10,05	9,87	9,47	9,35	9,35	—	0,7	10,05	9,87	9,80	9,80	9,80	—	0,25
	No. IV.							No. VII.						
spez. Gewicht	1,0406	1,0403	1,0397	1,0399	1,0399	—	—	1,0406	1,0406	1,0398	1,0396	1,0396	—	—
cc $\frac{n}{10}$ NaOH pro 100 cc	12,0	15,0	16,0	17,0	16,0	4,0	—	12,0	16,0	18,0	21,0	14,0	2,0	—
% Stickstoff	0,075	—	0,070	0,065	0,060	—	0,015	0,075	—	0,056	0,050	0,042	—	0,033
% Protein	0,47	—	0,44	0,41	0,38	—	0,09	0,47	—	0,35	0,31	0,26	—	0,21
% Alkohol	—	—	Spuren	Spuren	—	—	—	—	—	Spuren	Spuren	—	—	—
Farbentiefe	3,25	3,15	3,1	3,1	3,0	—	0,15	3,25	3,15	3,0	2,8	2,8	—	0,45
% Extrakt n. B.	10,05	9,97	9,82	9,87	9,87	—	0,18	10,05	10,05	9,85	9,80	9,80	—	0,25

Tabelle No. 13. — Verhalten der Organismen zu verschiedenen Mengen organischer Säuren.

Organismus No.	No. III					No. IV					No. V					No. VII				
Menge d. org. Säuren in %	0	¼	½	1	2	0	¼	½	1	2	0	¼	½	1	2	0	¼	½	1	2
Essigsäure	+ 3	+ 3—4	—	—	—	+ 4	—	—	—	—	+ 3	+ 8—10	—	—	—	+ 3	+ —8—10	—	—	—
Milchsäure	+ 3	+ 3	+ 4	+ 4—5	+ 7—8	+ 4	+ 5—6	—	—	—	+ 3	+ 3	+ 3	+ 4—5	+ 6—7	+ 3	+ 7—8	—	—	—
Weinsäure	+ 3	+ 3	+ 3	+ 5	+ 6	+ 4	+ ? 8	—	—	—	+ 3	+ 3	+ 4	+ 4	+ 6	+ 3	+ 7—8	—	—	—
Zitronensäure	+ 3	+ 3	+ 3	+ 3	+ 4	+ 4	—	—	—	—	+ 3	+ 3	+ 3	+ 4	+ 5	+ 3	+ 5	+ ? 10	—	—
Äpfelsäure	+ 3	+ 3	+ 3	+ 4	+ 6	+ 4	—	—	—	—	+ 3	+ 3	+ 4	+ 4	+ 6	+ 3	+ 4	+ ? 10	—	—
Bernsteinsäure	+ 3	+ 3	+ 3	+ 4	+ 4	+ 4	—	—	—	—	+ 3	+ 3	+ 3	+ 4	+ 4	+ 3	+ 4	+ ? 10		

Bemerkungen: + = deutliche Entwicklung, die dabeistehende Zahl gibt die Tage an, nach welchen diese Entwicklung zuerst wahrgenommen werden konnte. — = keine Entwicklung. ? = ganz schwache Entwicklung.

Tabelle No. 14. — Verbrauch an organischen Säuren.

Acidität in cc $\frac{n}{10}$ NaOH pro 100 cc	No. III				No. V				No. VII			
	Kontrollfläche zu Anfang u. Schluß	nach 8 Tagen	nach 3 Wochen	Abnahme	Kontrollfläche zu Anfang u. Schluß	nach 8 Tagen	nach 3 Wochen	Abnahme	Kontrollfläche zu Anfang u. Schluß	nach 8 Tagen	nach 3 Wochen	Abnahme
Essigsäure	32,0	24,0	8,0	16,0	32,0	30,0	20,4	11,6	32,0	30,0	18,0	14,0
Milchsäure	60,0	58,0	52,0	8,0	60,0	58,0	55,0	5,0	60,0	60,0	57,0	3,0
Weinsäure	42,6	40,0	36,0	6,0	42,6	39,6	36,0	6,6	42,6	41,8	38,0	4,6
Zitronensäure	38,4	28,0	4,0	34,4	38,4	36,9	33,6	4,8	38,4	38,0	34,0	4,4
Äpfelsäure	84,0	60,0	8,0	76,0	84,0	78,0	58,0	26,0	84,0	83,0	81,0	3,0
Bernsteinsäure	42,0	30,0	5,0	37,0	42,0	34,0	6,0	36,0	42,0	34,0	8,0	34,0

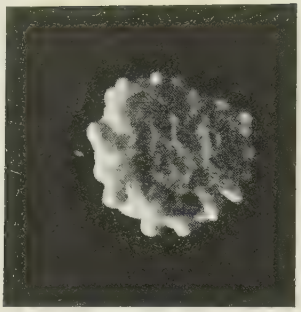


Fig. 1.

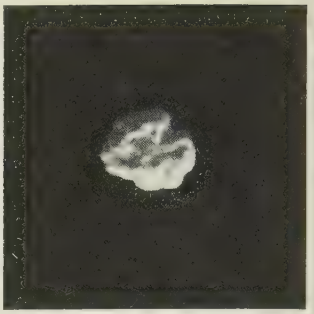


Fig. 2.

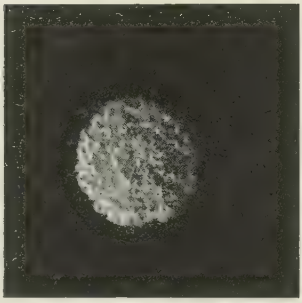


Fig. 3.

Fig. 4.

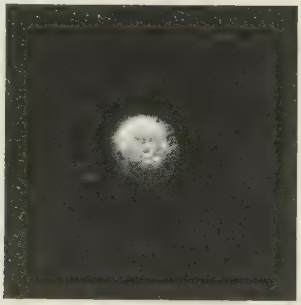


Fig. 5.

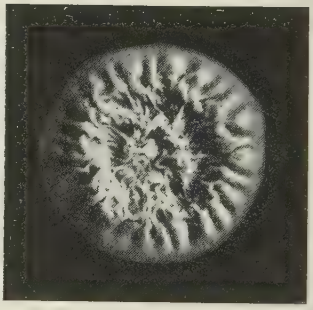


Fig. 6.

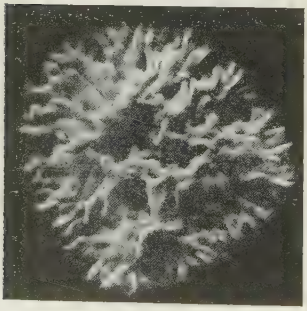


Fig. 7.

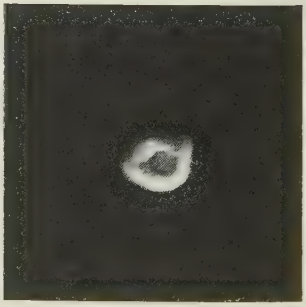


Fig. 8.

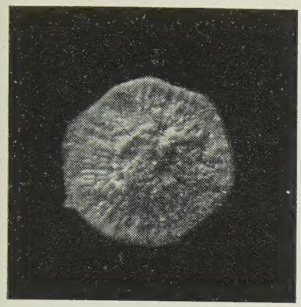


Fig. 9.

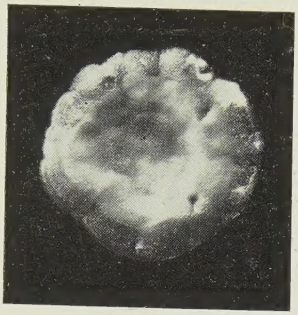


Fig. 10.

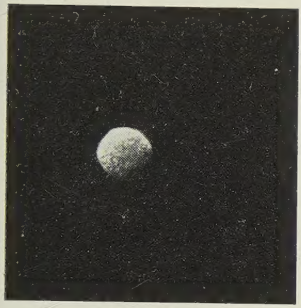


Fig. 11.

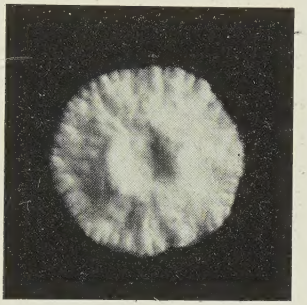


Fig. 12.

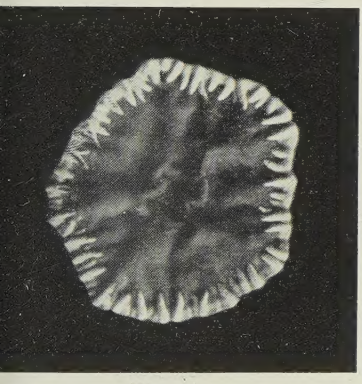


Fig. 13.

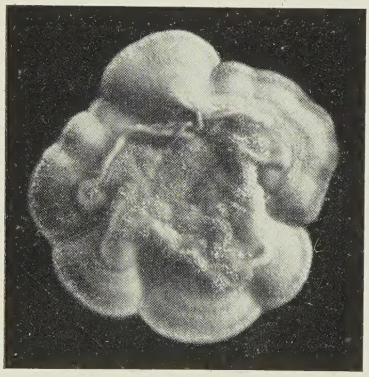


Fig. 14.

Fig. 1, 2, 3, 13 und 14 von Pilz No. III.
Fig. 4, 5, 6 „ „ No. IV.
Fig. 7, 8, 9 „ „ No. V.
Fig. 10, 11, 12 „ „ No. VII.

Fürstlich priv. Hofbuchdruckerei (F. Mitzlaff),
Rudolstadt.